

ARCHIV FÜR HYGIENE

BEGRÜNDET VON MAX VON PETTENKOFER
FORTGEFÜHRT VON MAX RUBNER

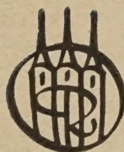
UNTER MITWIRKUNG VON

Prof. Dr. R. ABEL, Jena; Prof. Dr. O. BAIL, Prag; Prof. Dr. BONHOFF, Marburg a. L.; Prof. Dr. R. DOERR, Basel; Prof. M. FICKER, Berlin-Dahlem; Prof. Dr. R. GRASSBERGER, Wien; Prof. Dr. M. HAHN, Berlin; Prof. Dr. L. HEIM, Erlangen; Prof. Dr. K. KISSKALT, München; Prof. Dr. W. KRUSE, Leipzig; Prof. Dr. Ph. KUHN, Gießen; Prof. Dr. A. LODE, Innsbruck; Prof. Dr. R. O. NEUMANN, Hamburg; Prof. Dr. L. PFEIFFER, Schwerin; Prof. Dr. W. PRAUSNITZ, Graz; Prof. Dr. Fr. RENK, Dresden; Prof. Dr. P. SCHMIDT, Halle a. S.; Prof. Dr. W. SILBERSCHMIDT, Zürich; Prof. Dr. K. SÜPFLE, Dresden; Prof. Dr. W. WEICHARDT, Erlangen; Prof. Dr. J. WILHELMI, Berlin

HERAUSGEGEBEN VON

M. v. GRUBER · K. B. LEHMANN · P. UHLENHUTH

98. Band



MÜNCHEN UND BERLIN
DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG
1927

Inhalt.

Der Blutumsatz bei chronischer Bleivergiftung.

Von

Dr. Ludwig Schmidt-Kehl,

Assistent am Institut.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Würzburg. Vorstand: Geh. Rat Professor Dr. K. B. Lehmann.)

(Bei der Redaktion eingegangen am 7. Dezember 1926.)

Im Gesamtbild der Bleivergiftung wurde von jeher den Wirkungen des Bleis auf das Blut große Beachtung geschenkt, die Untersuchungen darüber schienen fast zum Abschluß gelangt zu sein. Der Blutumsatz war jedoch bisher bei Bleivergiftung noch nicht erforscht, und es war zu erwarten, daß darauf gerichtete Untersuchungen neue Einblicke in das Wesen der Bleivergiftung gewähren würden. Unter Blutumsatz (Blutmauserung) versteht man die Gegenüberstellung von Zerstörung und Neubildung der roten Blutkörperchen; diese Betrachtungsweise hat sich als Ergänzung der Blutkörperchenzählung für die Klinik der Blutkrankheiten, insonderheit der Anämien, als sehr fruchtbar erwiesen.

I. Methoden zur Bestimmung des Blutumsatzes.

Die Störung der Blutmauserung wurde in den Tier- und Menschenversuchen durch folgende vor, während und nach der Bleieinnahme angestellten Untersuchungen Schritt für Schritt verfolgt:

1. Zählung der roten Blutkörperchen in der Thoma-Zeißschen Kammer,
2. Bestimmung des Hämoglobingehaltes des Blutes mittels des Sahlischen Hämometers, das nach Hirschfeld an Stelle der der Haematinlösung 2 gefärbte Glasstäbe enthält.
3. Errechnung des Färbeindexes aus Erythrozytenzahl und Hämoglobingehalt,
4. Nachweis der vermehrten Zerstörung roter Blutkörperchen. Als Maßstab für den Untergang von Erythrozyten wurde die in Kot und Urin auftretende Menge von Urobilin herangezogen.

Aus dem Hämin der zugrunde gegangenen roten Blutkörperchen entsteht zunächst der Gallenfarbstoff Bilirubin; dieser wird nach Fr. v. Müller (1) im Darm unter Mitwirkung von Bakterien zu Mesobilirubinogen (= Urobilinogen) reduziert. Ein Teil davon wird von der Darmwand rückresorbiert und gelangt im Harn zur Ausscheidung, soweit er nicht in Bilirubin zurückverwandelt wird. Der Rest erscheint im Kot. Beim Stehen an Luft und Licht verwandelt sich das Mesobilirubinogen in Urobilin (= Stercobilin).

Die quantitative Bestimmung des Urobilins im Kot ist in der Hand erfahrener Kliniker als wertvolles Hilfsmittel zur Erkennung von Blut-

körperchenzerstörung erprobt; im Laboratoriumsexperiment gelang es Kühl (2), intraperitoneal eingespritztes Hämoglobin im Kot quantitativ als Urobilin wiederzufinden. Die quantitativen Urobilinbestimmungen machte ich nach der Vorschrift Adlers (3), der sich der Schlesingerschen Fluoreszenzreaktion bedient. 5 g Faeces werden zunächst mit Petroläther zur Entfernung von Indol und Skatol gründlich ausgewaschen und dann mit 1 g Zinkazetat, 3 Tropfen Jodtinktur (zur Oxydation von Mesobilirubinogen in Urobilin) und 10 ccm Alkohol im Mörser verrieben; das Filtrat fluoresziert stark; aus dem Grad der Verdünnung, die notwendig ist, um die Fluoreszenz gerade zum Verschwinden zu bringen, wird der Urobilingehalt nach einer empirisch ermittelten Tabelle berechnet. Die Bestimmung des Urobilingehaltes des Harns geschieht auf analoge Weise.

Einige Kotproben wurden auch nach einer neuen genaueren Methode von Adler (4) untersucht. Der Kot wird danach mit Natriumsazetat in Gegenwart von essigsaurem Alkohol verrieben und das Filtrat in einem besonders dafür ausgegebenen Apparat mittels Chloroform und Petroläther extrahiert. Der Extrakt wird sodann mit dem Ehrlichschen Urobilinogenreagens (Dimethyl-para aminobenz aldehyd) versetzt und der Gehalt kolorimetrisch bestimmt.[1]) Die nach dieser Methode gefundenen Mengen von Urobilinogen (Mesobilirubinogen) waren durchschnittlich um ⅓ kleiner als die nach der alten Methode ermittelten Zahlen für Urobilin. Diese sind demnach alle beträchtlich zu hoch, jedoch wird dadurch die Richtigkeit der hier einzig interessierenden Zu- und Abnahme der Blutzerfallsprodukte im Kot nicht berührt.

5. und 6. Nachweis des vermehrten Aufbaus roter Blutkörperchen.

Hierfür standen zwei Methoden zur Verfügung, eine anatomische und eine physiologische. Die anatomische ist die Zählung der vitalfärbbaren Erythrozyten, sie wird, seitdem sie von Pappenheim (5) angegeben wurde, viel zur quantitativen Beurteilung der Blutregeneration verwendet.

Auf einen Objektträger wird ein Tropfen 1proz. Brillantkresylblaulösung ausgestrichen, nach der Trocknung ein kleiner Tropfen frischen Blutes darauf gebracht, mit einem Deckglas bedeckt und nach 10 Minuten ausgestrichen; die Nachfärbung erfolgt mit der May-Grünwaldschen Farblösung. 3 vitalfärbbare auf 1000 rote Blutkörperchen haben beim Menschen noch als normal zu gelten; was darüber ist, zeigt erhöhte Neubildung von roten Blutkörperchen an.

Als zweite Methode, die ich als physiologischen Nachweis junger Zellen der anatomischen zur Seite stellte, verwendete ich die Sauerstoffzehrung des Blutes.

Nach Morawitz (6) behält steriles luftgeschütteltes defibriniertes Blut vom Normalen, 5 Stunden unter Luftabschluß im Brutschrank aufbewahrt, seine hellrote Farbe, während dasjenige vieler Anämischer dunkelrot wird. Es rührt dies daher, daß die normalen roten Blutkörperchen nur außerordentlich wenig Sauerstoff zehren, die in zu jugendlichem Stadium in die Blutbahn ent-

---

[1]) Herr Dr. Adler von der Leipziger med. Klinik hatte die Freundlichkeit, mich brieflich von der neuen Methode in Kenntnis zu setzen und auch die kolorimetrische Bestimmung bei den von mir hergestellten Extrakten mit seinem Kolorimeter ohne Vergleichflüssigkeit vorzunehmen. Für beides sei ihm auch an dieser Stelle bestens gedankt.

lassenen Erythrozyten des Anämischen dagegen sehr viel. Diese erhöhte Sauerstoffzehrung macht sich auch schon in ganz frühen Stadien einiger Blutkrankheiten bemerkbar, in denen morphologische Zeichen überstürzter Blutregeneration (besonders Normoblasten) noch vermißt werden; sie geht aber im allgemeinen mit der Vermehrung der vitalfärbbaren Erythrozyten parallel.

Quantitativ läßt sich die Sauerstoffzehrung ermitteln, indem man den Sauerstoffgehalt des Blutes vor und nach der Brutschrankaufbewahrung bestimmt. Der Verlust an Sauerstoff während dieser Zeit, gemessen an dem ursprünglichen Sauerstoffgehalt, wird in Prozenten ausgedrückt; es ist nach Itami (7) üblich, für je 1000 weiße Blutkörperchen im cbmm 0,1% in Abzug zu bringen. Auf diese Weise errechnet sich die Sauerstoffzehrung des normalen Blutes auf 4—5%.

Da auch der Aderlaß die Blutregeneration anzuregen imstande ist[1]), mußte vermieden werden, größere Blutmengen zu dieser Untersuchung heranzuziehen. Im Menschenversuch, der deshalb allein in Frage kam, ließ ich jedesmal nicht mehr als 2,5 ccm Blut aus der Armvene entnehmen[2]) (das ist ½ ‰ der gesamten Blutmenge) und machte die Sauerstoffbestimmungen in einem Barcroftschen Apparat für 0,1 ccm Blut nach der von H. Straub (9) gegebenen Vorschrift.

Neuestens sind von Klein (10) und von Masuda (11) Zweifel an der Barcroftschen Methode erhoben worden. Diese betreffen jedoch nur die gefundenen absoluten Sauerstoffmengen; bei der Errechnung von Relativzahlen wie die Sauerstoffzehrung eine ist, hebt sich der Fehler wieder heraus.

Die Barcroftsche Untersuchung war die schwierigste der in dieser Arbeit herangezogenen und erforderte zunächst ein mehrwöchiges Einarbeiten, bis brauchbare Resultate erzielt wurden.

7. Zählung der basophil gekörnten Erythrozyten.

Die Färbung der Blutausstriche erfolgte mit Toluidinblau nach Litten und Süßmann. (12)

Ich machte, um Tagesschwankungen in der Zahl der Granulierten (s. im Anhang) zu entgehen, die Blutentnahme hierfür, wie übrigens für alle anderen Untersuchungen auch, stets zur gleichen Tageszeit, zwischen 11 und 12 Uhr.

II. Versuche an Tieren.

1. Katzen.

Ich ging zunächst die Frage im Tierversuch an und stellte vergleichende Blutkörperchenzählungen und Hämoglobinbestimmungen bei gesunden und bleikranken Katzen an.

Bei 6 normalen Tieren fand ich im Durchschnitt 8000000 rote Blutkörperchen und 74% Hämoglobingehalt. Zur Erzielung von Bleivergiftung wurden 8 gesunde Katzen etwa 5 Monate lang täglich (außer sonntags) mit 5—25 mg Blei pro kg Körpergewicht (in Form von Bleiweiß und Blei-

[1]) Bei einem Selbstversuch von Morawitz (8) stieg die Sauerstoffzehrung nach Aderlaß von 300 resp. 400 ccm auf das Doppelte.

[2]) Mein Mitassistent F. E. Haag war so freundlich, allwöchentlich die kleine Operation an mir vorzunehmen.

sulfat) gefüttert.[1]) Die Vergiftung befand sich nach Ablauf dieser Zeit in den verschiedensten Stadien; sämtliche Tiere waren in ihrem Allgemeinbefinden und psychischen Verhalten mehr oder weniger gestört; die meisten zeigten wenigstens andeutungsweise Bleisaum. Nr. 2, 3 und 6 hatten schon Krampfanfälle gehabt; Nr. 3 starb 2 Tage, Nr. 1 14 Tage nach der Blutuntersuchung. Die folgende Tabelle gibt über die 8 Katzen Auskunft und enthält auch Angaben über den Gewichtsverlust während der Bleifütterung.

Bleivergiftete Katzen Nr.	tägliche Bleidosis pro kg	Zahl der roten Blutkörperchen	Hämoglobingehalt	Gewichtsabnahme während der Vergiftung
1	25	5 800 000	63 %	40 %
2	25	9 600 000	82 %	29 %
3	15	5 800 000	48 %	49 %
4	15	8 700 000	65 %	28 %
5	10	8 700 000	61 %	13 %
6	10	9 500 000	80 %	2 %
7	5	8 500 000	66 %	2 %
8	5	9 900 000	65 %	2 %

Beträchtliche Blutveränderungen zeigten sich somit nur bei denjenigen Katzen (1 und 3), bei denen die Vergiftung soweit vorgeschritten war, daß schon eine sehr große Gewichtsabnahme um 40 bzw. 49% stattgefunden hatte. Die Anämie scheint demnach bei der bleivergifteten Katze nur eine sekundäre Begleiterscheinung des allgemeinen Marasmus zu sein und erst kurz ante mortem aufzutreten.

Weitere Versuche sollten Aufschluß geben über eine eventuelle Zerstörung von roten Blutkörperchen bei Bleivergiftung.

Ich stelle die Ergebnisse der Blutbefunde und der Kotuntersuchungen auf Urobilin bei 2 normalen und bei 2 bleivergifteten Katzen einander gegenüber. Die Urobilinbestimmung wurde jeweils 2—3 Wochen lang durchgeführt.

	Erythrozyten pro cbmm	Hämoglobingehalt %	durchschnittliche tägliche Urobilinmenge im Kot mg	Bleisymptome
normale Katze 9	7 700 000	75	44	—
,, ,, 10	8 100 000	75	47	—
Bleikatze 11	9 800 000	81	23	epileptiforme Anfälle
,, 12	7 500 000	66	24	

Die Menge des täglich ausgeschiedenen Urobilins war bei den bleivergifteten Katzen in keinem Fall größer als bei den normalen; das Blei hatte demnach keine blutzerstörende Wirkung bei den Katzen.

Um aber noch sicherer zu gehen, wurde bei zwei weiteren Tieren die Bleivergiftung in ihrem ganzen Verlauf von Anfang an beobachtet. Die Katzen erhielten täglich 25 mg Bleiweiß (= 20 mg Blei) in Milch auf-

[1]) Die Versuche sind von Herrn Geheimrat K. B. Lehmann zu noch unveröffentlichten vergleichenden Studien über die Giftwirkung von Bleiweiß und Bleisulfat angestellt; er überließ mir die Tiere zu Blutuntersuchungen.

geschwemmt = etwa 10 mg pro kg Körpergewicht. In wenigen Tagen schon wurde eine schwere Bleivergiftung beobachtet, die sich abwechselnd in Durchfällen und Kotverhaltung, in Freßunlust und Mattigkeit äußerte. Mit der Bleimedikation wurde nach 17 bzw. 40 Tagen aufgehört, als Hirn- und Rückenmarkserscheinungen auftraten (Tobsuchts- und Krampfanfälle). In Kot und Harn der beiden Katzen wurde täglich der Urobilingehalt bestimmt und aus den Beobachtungen zweier Wochen der tägliche Durchschnitt gezogen; dadurch werden die Schwankungen des Urobilingehalts genügend ausgeglichen.

Durchschnittlicher täglicher Urobilingehalt des Kots.

	vor der Vergiftung mg	während der Vergiftung 1.—14. Tag mg	15.-28. Tag mg	29.-42. Tag mg	nach der Vergiftung mg
Katze 13 (Vergiftung schnell eingetreten)	23,5	15	27	—	14,5
Katze 14 (Vergiftung langsam eingetreten)	20,0	21,5	21,5	15,5	nicht untersucht

Nennenswerte Erhöhungen des Urobilingehalts konnten also im Kot nicht festgestellt werden; die Schwankungen waren bei Tier 13 größer als bei Tier 14; das Allgemeinbefinden war bei Tier 13 schlecht; es nahm in den 3 Wochen, die zur Erzielung von Krämpfen nur notwendig waren, 14% an Körpergewicht ab.

Der Urobilingehalt des Harnes blieb bei beiden Katzen während der ganzen Versuchsdauer ungefähr gleich.

Bei den beiden Katzen sollte auch der Wiederaufbau des Blutes untersucht werden; ich zog hierzu die Zählung der vitalfärbbaren Erythrozyten heran.

Es gelang mir nicht, vitalfärbbare Erythrozyten, wie sie sich beim Menschen leicht nachweisen lassen, im Katzenblut zu finden. Wohl färbten sich einzelne zarte Punkte und Stippchen vital in sehr vielen Erythrozyten, jedoch waren keine Unterschiede zwischen normalen Tieren und Bleitieren festzustellen. Vereinzelt traf ich gröbere Schollen, vermißte aber stets das für den Menschen charakteristische vitalgefärbte Netzwerk.

Granulierte Erythrozyten waren weder bei gesunden Katzen noch bei bleivergifteten in irgendeinem Stadium der Erkrankung zu finden.

Das Blei hat demnach auf das Blut der Katze keinen merklich zerstörenden Einfluß. Angaben früherer Autoren (Süßmann (13), Nehring (14), Aub, Fairhall, Minot, Reznikoff (15)), die gleichfalls basophile Granula vermißten, werden dadurch bestätigt; auch K. B. Lehmann (16), der sie in einem kleinen Prozentsatz der beobachteten Katzen vermehrt sah, konnte nur in zwei Fällen mehr als 1000 Granulierte auf 1 Million Roter feststellen, während sich ihre Zahl bei allen anderen Katzen auf höchstens 280 erhob.[1]) Die Katze eignet sich demnach nicht zu Blutuntersuchungen bei Bleivergiftung.

---

[1]) Herr Geheimer Rat Lehmann ermächtigt mich mitzuteilen, daß es sich bei den besprochenen Versuchen um das erste Mal handelte, daß Granula

2. Meerschweinchen.

Aussichtsreicher waren Versuche mit Meerschweinchen, bei denen die hämatotrope Wirkung des Bleis eine ganz ausgesprochene ist. Schwierigkeiten bereitete anfänglich die Urobilinbestimmung nach Adler (3); in den auf Fluoreszenz zu untersuchenden Extrakten trat stets ein störender grüner Farbstoff auf, der nichts anderes als Chlorophyll aus den Futterpflanzen sein konnte. Erst als ich die Meerschweinchen chlorophyllfrei mit Rüben, Kleie und Hafer ernährte, war die Urobilinbestimmung möglich.

Bei 2 Tieren erzeugte ich durch tägliche Fütterung von 8 mg Blei (in Form von Bleiweiß) pro kg Körpergewicht Bleivergiftung. Nach einer Woche traten Granulierte auf, nach 2 Wochen begann ich mit der Urobilinbestimmung im Kot. Ich fand

Meerschwein Nr.	Zeit der Untersuchung	Zahl der roten Blutkörperchen	Hämoglobingehalt %	Granulierte ‰	Urobilin im Kot eines Tages mg	Körpergewicht g
1	3. Bleiwoche	5 170 000	90	0,9	2,9	511
	4. ,,	4 460 000	81	0	2,9	525
	5. ,,	4 790 000	76	0,2	4,1	543
	6. ,,	4 510 000	67	9,4	4,6	543
	7. ,,	4 220 000	65	2,1	10,5	555
2	3. ,,	4 380 000	85	1,8	3,4	426
	4. ,,	4 250 000	76	5,2	3,8	444
	5. ,,	4 530 000	74	1,4	4,0	451
	6. ,,	4 630 000	77	4,2	6,5	448
	7. ,,	3 400 000	66	10,9	10,5	456

Mit zunehmender Vergiftung war die Zunahme der Urobilinausscheidung in beiden Versuchen deutlich. Bei 2 weiteren Tieren ging ich in gleicher Weise vor, begann aber mit den Untersuchungen schon vor Beginn der Bleifütterung. Auf diese Weise verfolgte ich den Blutumsatz bei den Meerschweinchen 3 und 4 während des ganzen Verlaufs der Bleivergiftung.

Meerschwein Nr.	Zeit der Untersuchung	Zahl der roten Blutkörperchen	Hämoglobingehalt %	Granulierte ‰	Urobilin im Kot eines Tages mg	Körpergewicht g
3	Vorbleiwoche	5 860 000	99	0	3,1	512
	1. Bleiwoche	5 480 000	100	0	4,3	556
	2. ,,	5 260 000	87	0	6,6	588
	3. ,,	5 150 000	77	3,2	7,1	615
4	Vorbleiwoche	6 140 000	104	0	2,4	627
	1. Bleiwoche	5 660 000	104	0	3,3	645
	2. ,,	5 150 000	98	0	4,2	626
	3. ,,	5 030 000	93	0,6	7,2	638

Bei 4 Kontrolltieren, die kein Blei erhielten, denen aber gleich viel und gleich oft Blut entnommen wurde (2mal wöchentlich je 2 Tropfen),

---

bei der Katze beobachtet wurden. Er hält es aber für nicht ausgeschlossen, daß die Granula mit der ,,verdächtigen Sprenkelung“ der amerikanischen Autoren identisch war. Worin der Unterschied zwischen beiden besteht, geben die Amerikaner nicht an.

zeigten im Gegensatz zu den Versuchstieren keine Abnahme der roten Blutkörperchen und des Hämoglobingehalts und keine Zunahme des Urobilins.

Die Urobilinausscheidung war während der Bleivergiftung beträchtlich erhöht gegenüber dem Normalzustand. Die Bleivergiftung führt demnach beim Meerschweinchen schon in den frühesten Stadien zu vermehrter Blutkörperchenzerstörung. Der bisher übliche Schluß: „Da die Zahl der Blutkörperchen in den Anfangsstadien der Bleivergiftung nicht wesentlich vermindert ist, besteht kein primär gesteigerter Untergang von Erythrozyten“, ist unberechtigt; denn die Zahl der roten Blutkörperchen ist kein Maßstab für den Blutumsatz, sie kann gleich bleiben, wenn durch Heranziehung von Reserven oder durch vermehrte Regeneration die Lücken gefüllt werden. Vermehrung der Blutschlacken (als Bilirubin im Blut oder wie hier als Urobilin im Kot nachgewiesen) ist dagegen ein sicheres Kriterium erhöhten Blutumsatzes.

Die Urobilinausscheidung im Harn war gegenüber derjenigen im Kot sehr gering und zeigte keine von der Bleivergiftung abhängige Schwankungen.

III. Versuch am Menschen.

1. Versuchsplan und Versuchsperson.

Während die Katzenversuche negativ verlaufen waren, gaben die Beobachtungen am Meerschweinchen wertvolle Hinweise auf den Blutumsatz bei Bleivergiftung. Man muß sich aber hüten, das bei diesem zum Studium der Bleitoxikologie allzu beliebten Versuchstier Gefundene einfach auf den Menschen zu übertragen, denn das Meerschweinchen besitzt offenbar ein in anderer Weise reagierendes Blutsystem als der Mensch.

Die Blutveränderungen bei menschlicher Bleivergiftung sind genau erforscht, über den Vorgang des Blutumsatzes fand ich in der Literatur aber nur eine Angabe Eppingers (17), der in einem Fall bei einmaliger Untersuchung die Urobilinausscheidung im Kot erhöht sah; die Blutmauserung sollte daher Schritt für Schritt verfolgt werden. Bei der Ungewißheit der zu erwartenden pathologischen Erscheinungen kam als Menschenversuch nur der Selbstversuch in Frage.

Von solchen ist mir aus dem Schrifttum nur derjenige von Nehring (14) bekannt; dieser Autor nahm 30 Tage lang täglich 10 mg Blei zu sich, das er in Form von Bleikarbonat in Mund- und Nasenhöhle einblies, in der Absicht, einen Teil davon einzuatmen. Eine fahle Blässe des Gesichts und eine gewisse Appetitlosigkeit waren die einzigen Symptome, die vielleicht auf Bleivergiftung zurückzuführen waren.

Als nicht vergleichbar mit Versuchen am gesunden Menschen muß ich die Beobachtungen unberücksichtigt lassen, die Bell (18) in England neuestens bei karzinomkranken Patienten anstellte, denen er zu therapeutischen Zwecken kolloidales Blei bis zu 0,2 g auf einmal intravenös einverleibte. So interessant seine Feststellungen sind — es kamen schwere Bleivergiftungen mit Kolik, Nierenerkrankung, ja sogar mit Enzephalopathie vor —, so sind sie doch an einem dekrepiden Menschenmaterial erhoben, das sich für die Erforschung gerade der Blutmauserung nicht eignete.

Der Selbstversuch konnte nur einmal durchgeführt werden, da nur Beobachtungen an bisher nicht Bleikranken von Interesse sein konnten und da, wie sich nachträglich herausstellte, die Bleivergiftung bei mir eine lange, 5 Monate dauernde Hämoglobinherabsetzung als Zeichen einer Schädigung der blutbildenden Organe setzte. Dafür mußte aber dieser eine Fall gründlichst untersucht und mit allen zur Verfügung stehenden Methoden geprüft werden.

Um die durch die Bleivergiftung hervorgerufenen Erscheinungen richtig zu beurteilen, ist ein Wort über die Konstitution der Versuchsperson unerläßlich:

Alter 35 Jahre, Körpergröße 189 cm, Nacktgewicht 67 kg. Von einigen Kinderkrankheiten abgesehen, bin ich niemals ernstlich krank gewesen, insbesondere ist das Fehlen von Tuberkulose und von Magen-Darmerkrankungen zu betonen. Die Hautfarbe ist für gewöhnlich etwas blaß, die Bräunung durch Sonnenstrahlen erfolgt relativ schwer. Durch vielfachen Sport (Turnen, Reiten, Faltbootfahren, Schilaufen) wird die körperliche Leistungsfähigkeit auf guter Höhe gehalten.

Ich bin mir bewußt, daß mein einer Versuch nicht imstande ist, die Blutumsatzfrage bei Bleivergiftung zu lösen, ja daß bei mir die Möglichkeit einer besonders leicht zustande kommenden Blutarmut und einer besonders trägen Bluterneuerung besteht. Ich betrachte diese Eventualität aber nicht als Einwand gegen meinen Versuch; vielleicht haben diese Umstände sogar die Trennung der einzelnen Phasen der Bleivergiftung wesentlich erleichtert; andererseits fordern sie zur Wiederholung des (im Grunde harmlosen) Versuchs auf, dessen Schwierigkeit nur in der Menge der neben- und nacheinander auszuführenden Untersuchungen liegt.

2. Zum Versuch verwendete Bleidosis.

Zur Erzielung einer Bleivergiftung nahm ich 20 Tage lang täglich 50 mg Bleiweiß (= 40 mg Blei) per os ein, d. i. das Vierfache der unwirksam gebliebenen Dosis Nehrings (14). Ich spreche im folgenden von der Vorbleiwoche, von den 3 „Bleiwochen“ und von den sich anschließenden Nachbleiwochen.

Wieviel Blei von den eingeführten 800 mg wirklich resorbiert wurde, läßt sich nicht angeben, denn es fehlen noch die am Tier auszuführenden Versuche, denjenigen Teil des Bleis, der bis zur Ausscheidung mit dem Kot das Darminnere überhaupt nicht verlassen hat, von jenem zu trennen, der von dem oberen Teile des Darmes resorbiert worden ist, im Körper seine Wirkung getan hat und erst nach Ausscheidung durch die Galle und durch die Dickdarmschleimhaut im Kot erscheint; Aub, Fairhall, Minot und Reznikoff (15) bestimmten im Tierversuch denjenigen Teil des Bleis, der weder unresorbiert passiert, noch den Körper auf dem Blut-Harnweg bzw. Blut-Galle-Darmweg rasch durchströmt; sie fanden, daß bei täglicher Verabreichung von Dezigrammen von Bleiazetat per os nur Mengen um 1 mg herum täglich im Körper gespeichert werden. Nach Teleky (19) erzeugt die tägliche Aufnahme von 2 mg Blei in gelöster Form mit dem Trinkwasser nach mehreren Monaten, von 10 mg nach einigen Wochen beim Menschen Bleivergiftung.

Die in meinem Selbstversuch gegebenen Verhältnisse liegen zweifellos im Leben vieler Bleiarbeiter vor; erst kürzlich berichtete Trautmann (20), daß er bei 5% der von ihm untersuchten Puderinnen in der 2. Woche nach der Arbeitsaufnahme basophil gekörnte Erytrozyten auftreten sah, das ist zur selben Zeit wie ich bei mir (s. u.). Dabei durften die in die Lungen der Puderinnen gelangten Mengen von Blei natürlich kleiner sein als die von mir durch den Magen aufgenommenen; die wirklich in die Blutbahn resorbierten Dosen waren aber vermutlich bei Puderinnen und mir von ähnlicher Größenordnung. — Auch das Ausbleiben von Magen- und Darmerscheinungen trotz der intestinalen Darreichung des Bleis spricht für leichte Vergiftung bei meinem Versuch.

3. Chemische Untersuchungen.

War also die während des ganzen Versuchs zur Wirkung gekommene Menge Blei nicht feststellbar, so konnte doch versucht werden, nach Aussetzen der intestinalen Bleiaufnahme die Mengen Blei zu ermitteln, die dann durch Kot und Urin noch ausgeschieden wurden. Mit der Sammlung der Ausscheidungen wurde erst 48 Stunden nach der letzten Bleieinnahme begonnen, um nicht noch unresorbiertes Blei im Kot zu finden. Ich ließ jeweils 5 Tage lang Kot und Harn zusammenkommen und verarbeitete von beidem 7 solcher Fünftageportionen.

Nach der Vorschrift von Froboese (21) trocknete ich den Kot; statt ihn sodann mühsam im Mörser zu zerreiben, fand ich praktisch, ihn durch eine gut schließende Kaffeemühle ohne tote Ecken zu treiben; im Harn erzeugte ich durch Sodazusatz einen Phosphatniederschlag, der alles vorhandene Blei enthalten mußte.

Die quantitative Analyse des sauren Extraktes der Asche versuchte ich zunächst mit der üblichen Schwefelwasserstoff-Chromatfällung. Sie ergab nur für den Kot, der vom 3. bis zum 8. Tag nach Aufhören der Bleizufuhr ausgeschieden wurde, auffindbare Mengen von Blei, nämlich 12,5 mg. Es liegt nahe, anzunehmen, daß die Zeit von 48 Stunden für die Passage des unresorbierten Bleis doch noch zu kurz gewesen war und daß dieses mindestens einen Teil der 12,5 mg darstellt. Die weiteren Portionen von Kot sowie sämtliche Harnproben erwiesen sich nach dem angewandten Analysengang als bleifrei.

Ich zog daher noch den mikroanalytischen qualitativen Bleinachweis mittels der Kaliumbleikupferhexanitritmethode von Behrens (22) heran.

Dieser Nachweis ist besonders von den amerikanischen Autoren viel angewendet worden, bei seiner Beschreibung halte ich mich auch an die von Fairhall (23) benutzte Modifikation. Die Asche des auf Blei zu untersuchenden Organs wird in Salzsäure gelöst, die Lösung neutralisiert und wieder mit Salzsäure bis zur schwachen Methylorangereaktion versetzt. Zunächst wird jetzt in einem Zentrifugenglas, das die 10—20 ccm betragende Lösung enthält, das Blei mit Schwefelwasserstoff gefällt. Um die Fällung möglichst ausgiebig zu gestalten, erfolgt sie bei Eiskühlung unter Zusatz von 1 Tropfen 2 proz. Kupferazetatlösung (Kupfersulfid reißt Bleisulfid mit) und von 1 ccm gesättigter Ammoniumsulfatlösung (zwecks Aussalzung der kolloidal ausfallenden Sulfide). Durch dreimaliges Zentrifugieren und Dekantieren werden die störenden Ammonium-, Eisen- und Kalziumsalze ausgewaschen. Durch Einstellen in ein Becherglas mit siedendem Wasser wird aus dem den Niederschlag enthaltenden

Zentrifugenglas der Rest von Waschwasser verjagt. Man löst den Niederschlag mit 2 Tropfen Salpetersäure und bringt die Hälfte davon auf einen Objektträger. Der Tropfen wird über der Flamme zur Trockene gebracht, 10 cbmm 4proz. Natriumazetatlösung lösen den Rückstand wieder (Pufferung der freien Mineralsäuren), die Lösung wird wieder eingedampft. Der Objektträger wird jetzt unten mit Eis gekühlt und in die Mitte des Salzkreises kommt ein kleiner Kristall von Kaliumnitrit und 5 cbmm 10proz. Essigsäure. Bei Anwesenheit von Blei bilden sich jetzt außerordentlich charakteristische, unter dem Mikroskop bei schwacher Vergrößerung erkennbare große schwarze und kleine rötlich durchscheinende würfelförmige Kristalle von Bleikupferhexanitrit.

Nach dieser Methode fand ich in sämtlichen Proben von Kot und Harn bis 5 Wochen nach dem Aufhören der Bleimedikation Spuren von Blei; die angewandten Reagentien, nach der gleichen Vorschrift geprüft, erwiesen sich als bleifrei.

Als empfindlichste quantitative Bleireaktion sollte noch die spektrographische Methode von Necke, Schmidt und Klostermann (23½) angewandt werden.[1]) Es fanden sich in den fünf untersuchten Proben sowohl von Kot als auch von Harn Mengen von 0,6—1,7 mg Blei. Nimmt man die oben schon genannte Analysenzahl hinzu, so konnten demnach ermittelt werden:

Tage nach Aufhören der Bleizufuhr	mg Blei im Kot	mg Blei im Harn
3.— 7.	12,5	0,6
8.—12.	1,3	0,8
13.—17.	1,7	0,9

5 Monate später auf Blei untersuchter Kot und Harn ließen Blei vermissen (Nitritmethode). Durch diesen Kontrollversuch ist erwiesen, daß nach Aufhören der Bleizufuhr noch während mindestens 5 Wochen Blei, das deponiert gewesen war, mobilisiert wurde und im Körper kreiste.

4. Die Durchführung des Menschenversuchs.

Ich achtete von Beginn der Bleimedikation ab ein Vierteljahr lang auf alle klinischen Erscheinungen der Bleivergiftung. Die schon erwähnten Untersuchungsmethoden der Blutmauserung zähle ich noch einmal mit einigen ergänzenden Bemerkungen auf:

a) Zählung der roten Blutkörperchen.
b) Bestimmung des Hämoglobingehalts.
   Diese beiden ersten Untersuchungen wurden einmal wöchentlich, jeweils Freitags vorgenommen.
c) Errechnung des Färbeindexes aus Erythrozytenzahl und Hämoglobingehalt.
d) Urobilinausscheidung in Kot und Harn.

Um die normal vorkommenden Schwankungen möglichst niedrig zu halten, führte ich während des Versuchs eine sich allwöchentlich in gleicher Weise wiederholende Diät durch. Besonders wurde darauf geachtet, daß

[1]) Herr Professor P. Schmidt in Halle hatte die Freundlichkeit die schwierige und zeitraubende Analyse vorzunehmen. Ich danke ihm auch an dieser Stelle für die gehabte Mühe.

die Fleischportionen stets die gleichen waren, denn Morawitz und Kühl (24) wiesen nach, daß eine (allerdings exzessive) Steigerung der Fleischzufuhr Erhöhung der Blutmauserung im Gefolge hat.

Ich bestimmte durch tägliche Untersuchung den Urobilingehalt von Kot und Harn, die jeweils von Montag mittag bis Samstag mittag ausgeschieden wurden, und nahm daraus das Mittel für einen Tag; den Wert trug ich in der Kurve für die Mitte der Woche ein. Als Normalwert fand ich vor und nach der Bleivergiftung 700 bis 800 mg tägliche Urobilinausscheidung im Kot und 5—12 mg im Harn.

e) und f) Nachweis von jungen Elementen im Blut durch Zählung der vitalfärbbaren Erythrozyten und Bestimmung der Sauerstoffzehrung des Blutes. Beide Untersuchungen nahm ich einmal wöchentlich vor, die erste zusammen mit den anderen Blutuntersuchungen am Freitag, die zweite recht zeitraubende an einem anderen nur ihr gewidmeten Tag, dem Montag.

g) Zählung der basophil granulierten Erythrozyten. Die hierzu erforderlichen Blutausstriche führte ich jeweils Freitag aus. Punktierte Polychromatische wurden mitgezählt.

5. Ergebnisse der Untersuchungen.

a) Allgemeinerscheinungen, Bleisaum, Bleikolorit, intestinale Erscheinungen.

Subjektive Symptome als Folge der leichten Bleivergiftung traten nur in bescheidenem Maße auf. Während der Bleiaufnahmezeit selbst fehlte jedes Symptom, in der zweiten und dritten Nachbleiwoche notierte ich jedoch leichte Kopf- und Leibschmerzen und eine gewisse Abgespanntheit. Kopf- und Leibschmerzen möchte ich nicht mit Bestimmtheit auf die Bleieinnahme beziehen, wohl aber die Mattigkeit; denn diese machte in der vierten und fünften Nachbleiwoche, die gleichzeitig die letzten Wochen vor dem Urlaub waren, einem deutlichen Gefühl der Frische Platz, das im Widerspruch zu der üblichen Semestermüdigkeit stand. Das Körpergewicht, das monatlich, einige Tage vor Beginn der Bleiaufnahme, in der ersten und der fünften Nachbleiwoche bestimmt wurde, schwankte nur um 300 g, im Laufe des darauffolgenden Urlaubsmonats stieg es um 1500 g.

Als objektives Zeichen von Bleiaufnahme erschien am 12. Tage der Bleimedikation ein kleiner lokalisierter Bleisaum am ersten linken unteren Schneidezahn. In der vierten Nachbleiwoche verschwand er wieder.

Bleikolorit, das nicht nur als Symptom der Bleiaufnahme, sondern schon der Bleivergiftung aufzufassen ist, trat in der zweiten Nachbleiwoche auf, mein Aussehen wurde allgemein als „schlecht" bezeichnet. Dies hielt sich etwa 4 Wochen lang und machte in der Urlaubszeit, während der ich mich im Mittel- und Hochgebirge intensiver Sonnenbestrahlung aussetzte, einer Bräunung der Haut Platz.

Objektive Erscheinungen von seiten des Magen-Darmkanals, besonders Verstopfung, Durchfall, Kolik traten nicht auf. Hämatoporphyrin konnte ich im Urin nicht nachweisen, was beim Fehlen der Bleikolik auch nicht zu erwarten war.

b) Erscheinungen am System der weißen Blutkörperchen.

Die absolute Zahl der weißen Blutkörperchen war während der Bleivergiftung unverändert 7000—8000. Die differenzierte Untersuchung des weißen Blutbildes, das nach neuen Mitteilungen von Thiele (25), Gabel (26), Gelmann (27), Stickl (28) bei Bleivergiftung relative Lymphozytose zeigt, ergab folgendes:

	Bleiwoche		Nachbleiwoche					
	2.	3.	1.	2.	3.	4.	5.	10.
Lymphozyten in % sämtlicher weißer Blutkörperchen ...	35	37	35	41	40	34	38	35

Das Verhältnis von Lymphozyten zu Leukozyten war demnach nicht (oder höchstens andeutungsweise in der zweiten und dritten Nachbleiwoche) zugunsten der Lymphozyten gestört.

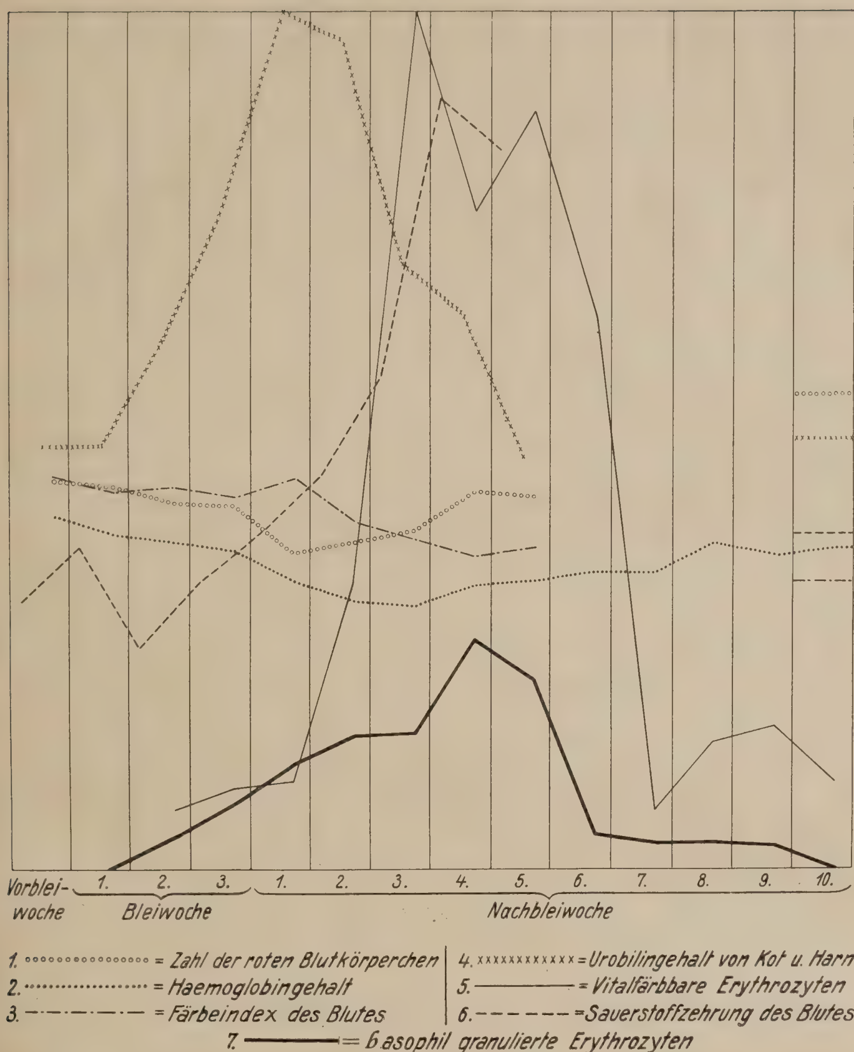
c) Erscheinungen am System der roten Blutkörperchen.

Recht schwerwiegend waren dagegen die Veränderungen am System der roten Blutkörperchen, worüber die folgende Tabelle und Kurventafel Auskunft gibt. Zu dieser sei bemerkt, daß die Abszisse für alle Kurven die Nullinie darstellt. Die ‰-Zahlen der Vitalfärbbaren und diejenige der basophil granulierten Erythrozyten sind im gleichen Maßstab gezeichnet, der jedoch ein viel größerer ist als derjenige sämtlicher roter Blutkörperchen.

Zeit der Untersuchung	Zahl der roten Blutkörperchen	Hämoglobin %	Färbeindex	Granulierte ‰	Vitalfärbung ‰	Sauerstoffzehrung %	tägliche Urobilinausscheidung im Kot mg	im Harn mg	gesamt mg
Vorbleiwoche	4 530 000	82	0,91	0	*)	3,7	729	10,3	739
1. Bleiwoche	4 440 000	78	0,88	0	*)	4,5	734	5,7	740
2. ,,	4 260 000	76	0,89	0,5	1	3,1	904	8,5	913
3. ,,	4 230 000	74	0,87	1,1	1,4	4,0	1149	10,4	1159
1. Nachbleiwoche	3 670 000	67	0,91	1,8	1,5	4,7	1496	9,2	1505
2. ,,	3 810 000	62	0,81	2,3	5	5,5	1437	8,7	1446
3. ,,	3 940 000	61	0,77	2,3	15	6,9	1052	7,5	1060
4. ,,	4 510 000	66	0,73	4	11,5	10,8	972	8,9	981
5. ,,	4 450 000	67	0,75	3,3	13,3	10,1	712	10,2	722
6. ,,	*)	69	*)	0,55	9,8	*)	*)	*)	*)
7. ,,	*)	69	*)	0,4	1	*)	*)	*)	*)
8. ,,	*)	76	*)	0,5	2,2	*)	*)	*)	*)
9. ,,	*)	73	*)	0,45	2,5	*)	*)	*)	*)
10. ,,	5 560 000	75	0,67	0	1,5	4,7	744	7,6	752

*) nicht untersucht.

Die Zahl der roten Blutkörperchen nahm von der zweiten Bleiwoche an deutlich ab. Ganz entsprechend setzte zur gleichen Zeit eine gegenüber der Norm vermehrte Ausscheidung vom Urobilin im Kot ein, erreichte



in der ersten Nachbleiwoche mit dem Minimum der Erythrozyten ihren Höhepunkt und war in der fünften Nachbleiwoche abgeklungen. Die Urobilinmenge im Harn blieb während der ganzen Versuchsdauer unverändert; Störungen der Leberfunktion sind demnach nicht aufgetreten.

Der Abfall des Hämoglobingehaltes ging zunächst dem Abfall der Erythrozytenkurve parallel: Mit verminderter Zellenzahl wurde auch der Farbstoffwert gering; in der zweiten und dritten Nachbleiwoche aber, in denen die Blutkörperchenzahl schon wieder stieg, fiel der Hämoglobingehalt weiter bis zum Tiefpunkt von 61%. Der dann erfolgende Wiederanstieg ging sehr langsam vor sich; die Norm wurde erst 6 Monate nach

Aufhören der Bleizufuhr erreicht. Bemerken möchte ich, daß ich es unterlassen habe, gegen den amämischen Zustand medikamentös vorzugehen.

Diese Inkongruenz zwischen Erythrozyten- und Hämoglobinkurve machte sich besonders im Färbeindex bemerkbar, der (nach anfänglichem Gleichbleiben) in der zweiten bis vierten Nachbleiwoche stark absank bis zum Wert von 0,73, in der fünften Nachbleiwoche wieder eine Tendenz zum Steigen zeigte, in der zehnten Nachbleiwoche bei inzwischen wieder größer gewordener Erythrozytenzahl, aber nur wenig gestiegenem Hämoglobingehalt ein neues Minimum von 0,67 aufwies und erst mit normalem Hämoglobingehalt im 6. Nachbleimonat wieder den Ausgangswert erreichte.

Die Bleivergiftung erzeugte also einen der Chlorose vergleichbaren Zustand, bei dem die Hämoglobinwerte stärker herabgesetzt waren als die Erythrozytenwerte.

Es machte in dem beobachteten Falle den Eindruck, als ob die Blässe und das Bleikolorit mit der Abnahme der roten Blutkörperchen und des Hämoglobingehalts parallel ginge. Es steht dies in Widerspruch mit der Anschauung Nägelis (29), der das veränderte Aussehen der Bleiarbeiter auf Gefäßkontraktionen bezieht und Anämie als Symptom nur von länger dauernden schweren Bleivergiftungen schildert.

Verstärkte Neubildung von roten Blutkörperchen machte sich nicht sofort bei erhöhter Blutzerstörung, sondern mit einer bemerkenswerten Latenz von 3 Wochen bemerkbar. In der zweiten Nachbleiwoche überschritt die Zahl der vitalfärbbaren Erythrozyten und die Sauerstoffzehrung des geschüttelten Blutes die Normalwerte von 3% bzw. 5%. Die verstärkten Neubildung von roten Blutkörperchen hielt jedoch nur 4—5 Wochen an.

Wie sich nun bei diesem Versuch Auftreten und Wiederverschwinden der basophil gekörnten Erythrozyten in den Gang der Blutmauserung einordnete, das konnte möglicherweise zum Verständnis dieser vielumstrittenen Zellen beitragen.

Granulierte waren vor der Bleiaufnahme überhaupt nicht vorhanden, traten aber schon in der zweiten Bleiwoche in einer als pathologisch zu bezeichnenden Menge auf, nahmen bis zur vierten Nachbleiwoche zum Höchstwert von 4‰ (= 4000 auf 1000000) zu und verschwanden erst in der zehnten Nachbleiwoche wieder, um dann nicht mehr aufzutreten. Die basophile Granulation war also (gleichzeitig mit der vermehrten Urobilinausscheidung im Kot) das erste Symptom der Bleivergiftung, das auftrat. Ungetüpfelte Polychromatische fand ich während der ganzen Beobachtungszeit auffallend wenig.

Während die Vitalfärbungs- und Sauerstoffzehrungskurve parallel liefen, hatte die Granuliertenkurve einen anderen Verlauf. Die Granulierten erschienen im Blut schon 3 Wochen, bevor Vitalfärbbare und Sauerstoffzehrung ihre Normalwerte überschritten, und sie verschwanden aus dem Blute erst 3 Wochen, nachdem die Vitalfärbbaren schon wieder zur Norm zurückgekehrt waren (die Sauerstoffzehrung wurde in diesem Stadium nicht mehr untersucht).

Ich kann daher nach meinem Selbstversuch das Auftreten von Granulierten nicht ohne weiteres als ein Zeichen starker Blutregeneration schlecht-

hin ansehen wie das vermehrte Auftreten der Vitalfärbbaren und die Erhöhung der Sauerstoffzehrung.

6. Folgerungen aus den Ergebnissen.

a) Der Blutumsatz.

Die Zahl der roten Blutkörperchen stellt bis zu einem gewissen Grade die Resultante zwischen Blutabbau und -aufbau dar. Mit steigender Urobilinausscheidung fiel die Blutkörperchenzahl. Das Zurückbleiben hinter dem Ausgangswert von 4530000 war allerdings bis zur dritten Bleiwoche gering (und fällt fast in die Fehlergrenze der Methode). Die Frage drängt sich auf, woher dieses beinahe geglückte Aufrechterhalten der Blutkörperchenzahl trotz starker Blutzerstörung und fehlender Erhöhung der Neubildung rührte. Der Körper verfügt über Reserven von Erythrozyten, die die Lücken füllen. Erst kürzlich hat Barcroft (30) nachgewiesen, daß die Milz bei der Katze nach starken Aderlässen nur noch ein Sechstel ihres Ursprungsgewichtes, nach intensiver Muskelanstrengung nur noch die Hälfte wog. Der Vorrat von Sauerstoffüberträgern, nach denen unter den Versuchsbedingungen größte Nachfrage ist, wurde in die Blutbahn geworfen. Auch das rote Knochenmark stellt ein Erythrozytendepot dar.

In der einen Woche von der dritten Bleiwoche bis zur ersten Nachbleiwoche sank die Blutkörperchenzahl sodann aber stark, von 4230000 auf 3670000. Vermutlich war nunmehr der „Stapelplatz für Erythrozyten“ (Barcroft) erschöpft, so daß jetzt der Abfall der Blutkörperchenzahl der Erhöhung der Urobilinausscheidung entsprechen mußte. In der zweiten Nachbleiwoche ließ die Blutzerstörung nach und setzte verstärkte Blutregeneration ein; damit erhob sich die Erythrozytenzahl naturgemäß und erreichte in der vierten Nachbleiwoche wieder etwa die Norm. In den folgenden Wochen trat eine Steigerung der roten Blutkörperchenzahl über den Ausgangswert hinaus auf (5560000 in der zehnten Nachbleiwoche). Es läge nahe, dieses Über-das-Ziel-Hinausschießen der Blutregeneration als reaktive Hyperfunktion des Knochenmarks nach anfänglicher Hypofunktion infolge von Bleiwirkung zu deuten; wahrscheinlicher ist mir, daß die geringe Polyzytämie durch den Aufenthalt im Hochgebirge (bis zu 3500 m Höhe) bedingt gewesen ist.

Normalerweise gehen täglich 2—3% der Erythrozyten zugrunde und bedingen eine Ausscheidung von etwa 750 mg Urobilin im Kot. Als ganz frühes Symptom der Bleivergiftung beobachtete ich Zunahme der Urobilinausscheidung; hieraus folgt, daß mehr rote Blutkörperchen zerstört werden als normal. Es liegen hierfür 2 Möglichkeiten vor, die zunächst einander scharf gegenübergestellt sein mögen.

1. Könnten die neuzubildenden Blutkörperchen schon im Knochenmark durch Blei vergiftet werden und vor ihrer Ausschwemmung ins Blut absterben.
2. Könnten die im peripheren Blut kreisenden Erythrozyten früher zugrunde gehen als normal.

Paul Schmidt und Erich Barth (31) fanden Blei in den roten Blutkörperchen von bleivergifteten Tieren. Dieses Blei könnten die Blut-

körperchen schon aus dem Knochenmark mitgebracht haben, oder es dringt erst in der Blutbahn in sie ein.

Daß die Blutkörperchen schon im Knochenmark geschädigt werden, ist als sicher anzunehmen. Denn zu einer Zeit, in der kein Blei mehr im Blut kreiste — 4 Monate nach Aufhören der Bleizufuhr — war noch verminderter Hämoglobingehalt der roten Blutkörperchen feststellbar als Zeichen der noch immer erkennbaren Knochenmarksschädigung. Eventuell erfolgt darüber hinaus noch eine Schädigung im kreisenden Blut; die Untersuchungen von Aub, Fairhall, Minot und Reznikoff (15) deuten auf diese Möglichkeit hin.

Auf der Höhe der Vergiftung (dritte Bleiwoche auf erste Nachbleiwoche) nahm in meinem Selbstversuch die Zahl der roten Blutkörperchen in einer Woche von 4230000 auf 3670000 um 560000 pro cbmm ab, demnach täglich durchschnittlich um 80000. 80000 sind 2% von 4000000, d. h. diese tägliche Abnahme ist etwa gerade so groß wie die normalerweise absterbende Quote der roten Blutkörperchen. Tatsächlich wurde in diesem Stadium auch nicht die normale Menge von 750 mg Urobilin ausgeschieden, sondern die doppelte. Es ist also anzunehmen, daß in diesem Stadium etwa die doppelte Menge von Blutkörperchen zerstört wurde als normal.

Betrachten wir nun den extremen Fall, daß die 80000 Blutkörperchen, die außer den normalerweise zugrunde gehenden noch zerstört wurden, nur reifende oder eben fertige Formen im Knochenmark waren. Da normal täglich etwa 80000 neue Blutkörperchen pro cbmm aus dem Knochenmark nachgeschoben werden (in dem fraglichen Stadium des Versuchs war die Blutregeneration noch nicht gesteigert), so würde das bedeuten, daß die gesamte Tagesproduktion vernichtet wird. Dies ist im höchsten Maße unwahrscheinlich, denn bei fehlender Neubildung funktionstüchtiger roter Blutkörperchen müßte in kurzer Zeit das alte Blut aufgebraucht sein und der Tod eintreten. Dieses einfache Rechenexempel beweist eigentlich schon zur Genüge, daß (wenigstens in meinem Selbstversuch) die beobachtete Zerstörung von roten Blutkörperchen so beträchtlich war, daß sie aus dem Zugrundegehen von Vorstufen oder von eben fertigen Blutkörperchen, solange sie noch im Knochenmark sind, allein nicht erklärt werden kann.

Der **Mechanismus der Bleiwirkung** auf das rote Blutsystem ist vielmehr folgender: Schon die Normoblasten im Knochenmark werden durch das Blei geschädigt, gelangen aber noch größtenteils als äußerlich normale Erythrozyten in die Blutbahn, haben hier jedoch eine verkürzte Lebensdauer. Ob sie wirklich im zirkulierenden Blut durch weitere Bleiwirkung weiter geschädigt werden oder ob sie das schädigende Blei nur aus dem Knochenmark mitbekommen haben, wage ich trotz der vorliegenden amerikanischen Versuche nicht zu entscheiden.

Von dem Zeitpunkt ab, in welchem die doppelt-normale Urobilinmenge ausgeschieden wurde, dauerte es noch eine Woche, bis Andeutungen von vermehrter Blutregeneration vorhanden waren; erst nach 2 Wochen zeigte die beträchtliche Vermehrung der Vitalfärbbaren und die unzweifel-

hafte Erhöhung der Sauerstoffzehrung, daß die Neubildung von roten Blutkörperchen über die Norm hinaus gesteigert war.

Dieses verspätete Eintreten der Blutregeneration ist auffallend. Der Körper wahrt im allgemeinen streng das Gleichgewicht von Blutzerstörung und Blutneubildung, um die Zahl der roten Blutkörperchen nach Möglichkeit konstant zu erhalten. In den Vorstadien mancher Anämien halten sich nach Eppinger (17) beide Vorgänge die Wage: Trotz starker Zerstörung von roten Blutkörperchen sinkt ihre Zahl zunächst nicht, da der erythropoetische Apparat bemüht ist, den großen Ausgaben durch vermehrte Neubildung gerecht zu werden. Bei der Bleianämie (immer mit der Einschränkung: in meinem Selbstversuch) liegen die Verhältnisse offenbar anders. Hier tritt mit der Vermehrung der Urobilinausscheidung eine Erythrozytenverminderung auf als Zeichen dafür, daß die Neubildung den Verlust zunächst nicht auszugleichen imstande ist. Bei der vorliegenden geringfügigen Vergiftungsintensität wäre eigentlich zu erwarten gewesen, daß die Blutzerstörung durch die Bluterneuerung prompt ausgeglichen würde; allerdings nur unter der Voraussetzung, daß die Blutbildungsorgane intakt sind. Aus dem anfänglichen Fehlen der Bluterneuerungssymptome aber sind als primäre Angriffspunkte des Bleies wieder die Blutbildungsstätten selbst zu erschließen. Die aus ihnen in die Blutbahn entlassenen Erythrozyten sind, wie schon oben wahrscheinlich wurde, untüchtiger als normale und haben eine kürzere Lebensdauer als diese, so daß (bei noch fehlender vikariierender Blutneubildung!) die Blutkörperchenzahl sinken muß.

Nach Paul Schmidt (32) ist das Blei ein Zellkerngift und greift primär am Knochenmark an. In das System der Anämien, die Holler (33) in myelopathische und hämopathische einteilt, wäre die Bleianämie als vorwiegend myelopathische Anämie einzureihen.

Der umgekehrte Fall, daß nämlich eine Vermehrung jugendlicher Blutzellen vor erhöhter Blutzerstörung einsetzt, kommt auch vor: Morawitz und Kühl (24) beobachteten bei ihren Untersuchungen über die Blutmauserung nach starkem Fleischgenuß sowohl beim Hund als auch beim Menschen zunächst vermehrte Sauerstoffzehrung und erst später erhöhte Urobilinausscheidung; hier ist die verspätet auftretende Blutzerstörung „die Gegenregulation im Sinne einer normalen Zusammensetzung des Blutes“, die während des ganzen Versuches zahlenmäßig nicht gestört war. Die Gegenüberstellung von Blei- und Fleischwirkung dürfte besonders deutlich machen, daß das Blei primär einen schädigenden Einfluß auf das Knochenmark ausübt und daß regenerative Vorgänge erst in zweiter Linie in Betracht kommen; Fleisch ist im Gegensatz dazu „ein wahres Reizmittel für die blutbildenden Organe“.

b) Das Auftreten von basophil granulierten Erythrozyten.

Ich unterlasse es, auf die Geschichte des Granuliertenstreites näher einzugehen, da dieser in den Handbüchern ausführlich geschildert ist; jedoch muß ich mit einigen Worten auf die Argumentation Naegelis hinweisen, um die Besprechung meiner eigenen Versuchsergebnisse daran anzuschließen. Naegeli (29) fand Granula bei den normalen Embryonen aller von ihm untersuchten Tiere und, wenn auch spärlich, des Menschen (1908). Seine Schülerin Kuschljanska (34) wies im Blut eines 1 cm

langen Mäuseembryos 30 %, im Knochenmark dagegen 48 % sämtlicher Erythrozyten als basophil getüpfelt nach. Weiter werden nach Naegeli Granula bei denjenigen rein degenerativen menschlichen Blutkrankheiten stets vermißt, die als aplastische Anämien bezeichnet werden (z. B. aplastische Botriocephalusanämie, experimentelle aplastische Anämie bei Atrophie des Knochenmarks). Hier fehlen alle Zeichen der Regeneration, nämlich Mitosen, Kerne und Kernreste in den Erythrozyten, Ringkörper, und es fehlen auch basophile Granula. Das für die Bleivergiftung so charakteristische Symptom der basophilen Granula fehlt auch bei schweren Bleifällen in den letzten Stadien vor dem Tode (Tierversuche von Sabrazès (35), Menschenbeobachtungen von Stadler (36) und von Schnitter (37), ein Zeichen für die völlige Erlahmung der hämatopoetischen Organe (aplastisches Stadium). Auf diese Befunde stützt sich Naegeli, wenn er wörtlich schreibt: „Diese konstanten Befunde des Tierexperiments beweisen, daß eine Organfunktion bei der Entstehung der Granula im Spiele ist. Nur ein Organ kann auf mäßige Reize hin reagieren, auf intensive versagen (Insuffizienz) und vor dem Tode völlig erschöpfen; das periphere Blut ist kein Organ ... Das Knochenmark ist ein Organ; von ihm kennen wir unter den verschiedensten Umständen Auftreten einer Reaktion bei mäßig intensivem Reize und das Versagen bei zu starkem Reize.“ An anderer Stelle (38) drückt Naegeli seine Auffassung der Granulierten in folgendem Satz aus: „Basophil punktierte sind Gebilde einer an sich zwar pathologischen (oder embryonalen) Veränderung, jedoch kommen sie nur bei Regenerationsphänomenen vor und sind daher als eine pathologische oder embryonale Reaktion des Knochenmarks und als klinische Zeichen einer pathologischen Reaktion aufzufassen.“ Es ist Naegelis Verdienst, versucht zu haben, die unter den verschiedensten Bedingungen auftretenden basophil granulierten Erythrozyten von einem gemeinsamen Gesichtspunkt aus zu betrachten, und seitdem ist es nicht mehr angängig, die Granula bei Blei isoliert erklären zu wollen.

Volk (39) hat nun kürzlich gezeigt, daß das Gemeinsame aller Erkrankungen und Zustände, die zur Bildung von Granulierten Anlaß geben, in der Vermehrung der Hämoglobinzerfallsprodukte in der Blutbahn bei reaktionsfähigem Mark liege: In ausgesprochenem Maße sehen wir den Zerfall roter Blutkörperchen bei Malaria; bei Blutungen in den Magen-Darmkanal, auch beim Essen von Blutwurst, bei der Resorption von Hämatomen gelangen Blutzerfallsprodukte ins Blut und kommt es zur Bildung von Granulierten. Volk sah an sich selbst Granulierte auftreten, wenn hämolysiertes Blut intravenös eingespritzt wurde. Das unregelmäßige Vorkommen der Granula bei perniziöser Anämie, bei der unzweifelhaft stets Blutschlacken in erhöhtem Maße auftreten, richtet sich offenbar nach der jeweiligen Reizbarkeit des Knochenmarks.

In Übereinstimmung damit traten in meinem Selbstversuch die Granulierten gleichzeitig mit der Vermehrung der Blutzerfallsprodukte (nachgewiesen durch die Urobilinbestimmungen) auf, lange bevor die Regeneration eine Erhöhung erfahren hatte.

Das **Auftreten von Granulierten** ist demnach keine Begleiterscheinung vermehrter Blutregeneration nach Anämie (beim Normalen, der

Blutwurst ißt, liegt eine solche gewiß nicht vor), sondern eine Folge direkter Einwirkung von Blutzerfallsprodukten auf das rote Knochenmark, gleichgültig, ob sich dieses in einem Zustand vermehrter Funktion befindet oder nicht.

Es müßte in diesem Zusammenhang von größtem Interesse sein, eine Blutumsatzuntersuchung bei einem jener nicht zu seltenen Fälle zu machen, bei denen trotz normaler Blutkörperchenzahl reichlich Granulierte vorhanden sind. Bei Zurechtbestehen der obigen Behauptung müßte bei ihnen vermehrte Blutzerstörung durch Untersuchung des Blutes auf Bilirubin oder des Kotes auf Urobilin nachgewiesen werden können. Der starken Blutzerstörung würde eine vermehrte Blutregeneration die Wage halten.

Ob die beim Foetus nachweisbaren Granula auch auf einen hohen Blutumsatz zurückzuführen sind oder ob andere Gründe dafür vorliegen, wäre noch zu entscheiden; Urobilinbestimmungen scheinen für solche Untersuchungen nicht zu brauchen zu sein: Winternitz (40) zeigte kürzlich, daß Urobilin von der Mutter auf den Embryo übergehen kann. Für Bilirubin dagegen soll dieses nicht der Fall sein. Noch wahrscheinlicher als bei den embryonalen Granula ist es bei den künstlich in vitro durch Lauge zu erzeugenden Granula (Schilling (41)), daß sie genetisch mit den Granula bei Bleivergiftung, bei Malaria usw. nichts zu tun haben.

Anhang: Zur diagnostischen Bewertung der basophilen Körnelung der Bleivergiftung.

Von praktischer Bedeutung dürfte sein, daß der Versuch am Menschen von neuem die große diagnostische Bedeutung des Auftretens der basophil granulierten Erythrozyten erwiesen hat. Auf die genauen Zahlenverhältnisse wird man außer etwa bei Gutachten kein großes Gewicht legen, denn die Zahl der Granulierten ist, worauf schon immer hingewiesen wurde, beträchtlichen Schwankungen unterworfen. Bei Meerschweinchen fand K. B. Lehmann (16) bei Tag und Nacht fortgesetzten Blutentnahmen regelmäßiges Ansteigen bis Mitternacht und Abfallen bis Mittag. Ich fand bei mir selbst in der ersten Nachbleiwoche bei Untersuchung in vierstündigen Zwischenräumen:

8	Uhr	1550	Granulierte	auf	1000000,
12	„	1850	„	„	1000000,
16	„	1150	„	„	1000000,
20	„	750	„	„	1000000,
24	„	1250	„	„	1000000,
4	„	600	„	„	1000000;

einen gesetzmäßigen Verlauf möchte ich aus dieser einen Beobachtung nicht erschließen.

Neuerdings sind nun aber Zweifel an der Brauchbarkeit des Granulasymptoms für die Diagnose Bleivergiftung überhaupt erhoben worden. Hans Lehmann (42) hat in einer sorgfältigen Arbeit gezeigt, daß beim Meerschweinchen unter den verschiedensten Bedingungen, unter anderem beim Einatmen von Zement oder Kohlenstaub, bei Aufnahme von Alkohol durch den Magen basophil granulierte Erythrozyten in Mengen

auftreten, die man sonst nur bei Bleivergiftung zu sehen gewohnt ist. Eine Nachprüfung beim Menschen hat bisher nicht stattgefunden.

Ich machte zunächst Untersuchungen an 50 Arbeitern einer großen, in einzelnen Teilen recht staubreichen Zementfabrik, indem ich von ihnen während der Arbeitszeit Blutausstriche anfertigte. Ich konnte trotz gründlicher Durchmusterung von je 50 Gesichtsfeldern in keinem einzigen Falle mehr als 1—2 Granulierte, d. h. eine die Norm nicht überschreitende Zahl finden.

Über das Alter der Arbeiter und ihre Beschäftigungsdauer im Betrieb gibt die folgende Tabelle Auskunft:

Im Betrieb Jahre	Lebensalter 20—29	30—39	40—49	50—59	über 60	Summe
0—9	8	6	2	1		17
10—19	2	2	1	1		6
20—29		5	9	4	1	19
30—39			2	2	2	6
40—				1	1	2
Summe	10	13	14	9	4	50

In ähnlicher Weise prüfte ich das Blutbild von 40 Kohlenhäuern[1]). Auch bei diesen fand ich keine Granuliertenzahlen, die 100 auf 1000000 überschritten hätten. Lebens- und Berufsalter der Kohlenhäuer gibt die folgende Tabelle an:

In der Zeche unter Tag Jahre	Lebensalter bis 20	20—29	30—39	40—49	50—59	Summe
0—19	8	10	1	1		20
10—29		3	6	3		12
20—39			2	3	1	6
30—				2		2
Summe	8	13	9	9	1	40

Schließlich untersuchte ich noch das Verhalten von Trinkern.[2]) Die Norm übersteigende Zahlen von Granulierten konnte ich in keinem von 50 Fällen feststellen.

Lebensalter und Dauer deu Potatoriums ist aus der folgenden Tabelle zu ersehen:

Dauer des Potatoriums Jahre	Lebensalter 20—26	30—39	40—49	Sber 50	Summe
0— 9	3	8	6		17
10—19		2	9	8	16
20—29			1	5	6
30—				1	1
Summe	3	10	16	11	40

[1]) Es handelte sich um frisch in das Krankenhaus „Bergmannsheil“ in Bochum aufgenommene Unfallverletzte; die Erlaubnis zur Anfertigung eines Blutbildes gab mir in dankenswerter Weise Herr Oberarzt Dr. Koch.

[2]) Die Ausstriche fertigte Herr Anstaltsarzt Dr. Herzog von ambulanten Trinkern der psychiatrischen Fürsorgestelle in Mannheim und von frisch aufgenommenen Trinkern der Heil- und Pflegeanstalt Wiesloch an. Ich danke ihm auch an dieser Stelle für seine Bemühungen.

Zusammenfassung.

Bei der Katze hat das Blei keine deutliche hämotrope Wirkung. Beim Meerschweinchen, das täglich 8 mg Blei pro kg Körpergewicht per os aufnimmt, tritt als erstes Symptom vermehrter Urobilingehalt des Kotes auf als Zeichen von erhöhter Zerstörung roter Blutkörperchen. Die Bleianämie ist demnach beim Meerschweinchen eine direkte Bleiwirkung.

Bei Menschen berichte ich über einen vielseitig durchgeführten, aber vorläufig noch nicht zu verallgemeinernden Selbstversuch, bei dem täglich $\frac{1}{2}$ mg Blei pro kg Körpergewicht 3 Wochen lang per os aufgenommen wurde.

Als erstes Symptom tritt auch beim Menschen vermehrter Urobilingehalt des Kotes auf als Zeichen von erhöhter Zerstörung roter Blutkörperchen. Diese wird als primäre Wirkung des Bleis auf die kernhaltigen Blutstammzellen aufgefaßt, die sich zu roten Blutkörperchen mit verkürzter Lebensdauer entwickeln; möglicherweise kommt daneben eine direkte Wirkung des Bleis auf die kreisenden Blutkörperchen in Betracht. Im ersten Stadium der Bleivergiftung ist die Blutregeneration nicht über das normale Maß hinaus gesteigert. Bei erhöhter Blutkörperchenzerstörung kommt daher ein Sinken der Blutkörperchenzahl zustande, zunächst ein unbedeutendes, weil Blutkörperchenreserven die Lücken füllen, später ein starkes Sinken. Vermehrte Regenerationstätigkeit des Knochenmarks setzt erst ein, wenn die Anämie beträchtliche Grade erreicht hat; wahrscheinlich ist auch diese Hemmung der regulierenden Tätigkeit des Knochenmarks eine direkte Bleiwirkung.

Gleichzeitig mit der vermehrten Zerstörung roter Blutkörperchen, also lange bevor vermehrte Regenerationsfähigkeit des Knochenmarks auftritt, gelangen basophil granulierte Erythrozyten ins Blut. Diese sind demnach kein Zeichen quantitativ vermehrter, sondern nur qualitativ veränderter Blutregeneration; sie stellen nichts für Blei Charakteristisches dar, sondern sind als Folge der Einwirkung von Blutzerstörungsprodukten auf das rote Knochenmark aufzufassen.

In praktischer Hinsicht (für die Klinik der Bleivergiftung und für Arbeiteruntersuchungen) behält das vermehrte Auftreten von basophil granulierten Erythrozyten seine Bedeutung als wertvolles diagnostisches Hilfsmittel; die Feinzählung der Granulierten hat nur geringe Bedeutung, denn ihre Zahl schwankt auch beim Menschen beträchtlich (bis zum dreifachen) innerhalb von 24 Stunden. Die Granula fehlen im Gegensatz zum Meerschweinchenversuch (Hans Lehmann) beim Menschen, der lange Zeit hindurch Kohlenstaub oder Zementstaub eingeatmet oder der ebensolange Alkohol in Form von berauschenden Getränken aufgenommen hat.

Literatur.

1. Fr. v. Müller, Verh. d. schles. Ges. f. vaterl. Kultur. Breslau 1892, S. 1.
2. Kühl, Arch. f. exp. Pharmak. u. Pathol. 103, 247 (1924).
3. Adler, Deutsch. Arch. f. klin. Med. 138, 309 (1922), biochem. Zeitschr. 134, 533 (1923).
4. Adler, Deutsch. Arch. f. klin. Med. (1926).

5. Pappenheim, Inaug. Dissert. Berlin 1895.
6. Morawitz, Arch. f. exp. Path. und Pharm. 60, 298 (1909).
7. Itami, Arch. f. exp. Path. und Pharm. 62, 93 (1910).
8. Morawitz in Mohr-Staehelin, Handbuch der inneren Medizin (1926).
9. H. Straub in Abderhalden, Hdbch. der biolog. Arbeitsmethoden. 2. Aufl., Abt. IV, Teil 10, S. 213.
10. Klein, Klin. Wochenschr. 3, 553 (1924).
11. Masuda, Biochem. Zeitschr. 156, 21 (1925).
12. Süßmann, Arch. f. Hyg. 94, 6 (1924).
13. Süßmann, Arch. f. Hyg. 90, 175 (1922).
14. Nehring, Arch. f. Hyg. 91, 307 (1922).
15. Aub, Fairhall, Minot, Reznikoff, Lead Poisoning Baltimore (1926).
16. K. B. Lehmann, Arch. f. Hyg. 94, 1 (1924).
17. Eppinger, Die hepato-linealen Erkrankungen in ,,Enzyklopädie der klin. Med.". Berlin (1920).
18. Bell, Williams and Canningham Lancet 209, 793 (1925).
19. Teleky, In Gottstein-Schloßmann-Teleky, Handb. der soz. Hyg. u. Gesundheitsfürs. Bd. II. Berlin 1926.
20. Trautmann, Arch. f. Hyg. 94, 298 (1924).
21. Froboese, Arch. f. Hyg. 96, 289 (1926).
22. Behrens, Mikrochemische Analyse. 3. Aufl. Leipzig (1915).
23. Fairhall, Journ. of biolog. Chemistr. 57, 455 (1923).
23½. Necke, Schmidt und Klostermann, Deutsche med. Wochensbhrift 52, 1855 (1926).
24. Morawitz und Kühl, Klin. Wochenschr. 4, 7 (1925).
25. Thiele, Münch. med. Wochenschr. 71, 338 (1924).
26. Gabel, Dissertation Würzburg 1923 (ungedruckt).
27. Gelmann, Arch. f. Hyg. 96, 301 (1926).
28. Stickl, Klin. Wochenschr. 5, 1637 (1926).
29. Nägeli, Blutkrankheiten und Blutdiagnostik. 4. Aufl. Leipzig (1923).
30. Barcroft, zitiert nach Cohn, Klin. Wochenschr. 4, 1740 (1925).
31. Schmidt, Paul und Erich Barth, Arch. f. Schiffs- und Tropenhyg. 29, Beiheft 1, 326 (1925).
32. Schmidt, Paul, Zentralbl. f. Gewerbehyg. N. F. 1, 9 (1924).
33. Holler, Zeitschr. f. klin. Med. 103, 1 (1926).
34. Kuschljanska, Inaug. Dissert. Zürich 1908.
35. Sabrazès, Münch. med. Wochenschr. 54, 1214 (1907).
36. Stadler, Korrespbl. f. Schweiz. Ärzte 1912, S. 145.
37. Schnitter, Deutsch. Arch. f. klin. Med. 117, 127 (1915).
38. Schittenhelm, Handb. der Krankh. d. Blutes und d. blutbild. Organe. Berlin (1926).
39. Volk, Deutsch. med. Wochenschr. 51, 1907 (1925).
40. Winternitz, Klin. Wochenschr. 5, 988 (1926).
41. Schilling, Fol. hämat. 11, 327 (1911).
42. Lehmann, Hans, Arch. f Hyg. 96, 321 (1926).

Die Ausgleichs- und Fehlerrechnung bei Desinfektionsversuchen.

Von
Heinrich Reichel und **Herwigh Rieger.**

(Aus der Abteilung für amtsärztliche Ausbildung und Sozialhygiene des Hygienischen Instituts der Universität Wien. Leiter: Prof. Dr. Heinrich Reichel.)

(Bei der Redaktion eingegangen am 29. Oktober 1926.)

Die Ausgleichs- und Fehlerrechnung wurde bisher bei der Beurteilung von Ergebnissen von Desinfektionsversuchen nicht ausreichend verwendet. Und doch hat diese nicht nur bei Versuchen, die auf Klärung von theoretischen Fragen der Desinfektion abzielen, ihre volle Berechtigung, sondern in gleichem Maße auch bei der Beurteilung und Begutachtung von Desinfektionsmitteln; ja die Anwendung der Ausgleichs- und Fehlerrechnung stellt sogar eine unerläßliche Notwendigkeit dar, da in jedem Falle das Maß der Verwertbarkeit der Versuchsergebnisse bestimmt werden muß und eine exakte Beurteilung von Ergebnissen auf andere Weise nicht möglich ist.

Die Grundlage für die Berechnungen bildet die allgemeine Wirkungsgleichung: $P^n \cdot T = R$[1]. Darin bedeutet: $P =$ Konzentration in %, $T =$ Einwirkungsdauer in Minuten, $n =$ Richtungswert, der die Art der Wirkung, $R =$ Resistenzwert, der die Stärke der Wirkung beschreibt und die gegebene Resistenz des Testmaterials, d. h. die zur Abtötung erforderliche Einwirkungsdauer bei der Konzentration von 1% angibt.

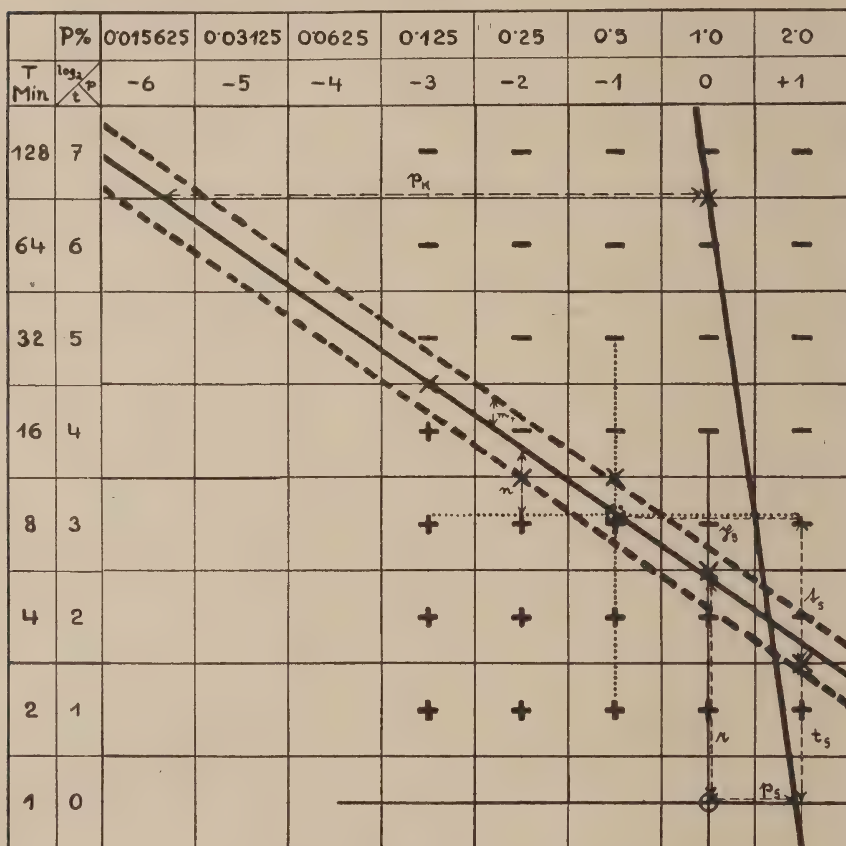
Die unabhängige Veränderliche der Gleichung ist der P-Wert, welcher für die Beobachtungspunkte beliebig gewählt und praktisch fehlerfrei festgelegt werden kann. Aber auch die Werte der abhängigen Veränderlichen, d. h. die beobachteten T-Werte, ergeben sich in diesem besonderen Falle nicht als irgendwelche aus der Reihe von Zeitpunkten, sondern sie sind durch die von vorneherein planmäßig gewählten Überimpfungszeitpunkte innerhalb bestimmter Grenzen, zwischen welchen ihre Lage unsicher bleibt, festgelegt. Die T-Werte müssen also zunächst für die Berechnung als Mittelpunkte der ebenfalls freigewählten Überimpfungs-

---

1) s. Reichel, Entkeimung, im Kraus-Uhlenhutschen Handbuch der mikrob. Technik, S. 49 ff.

intervalle angenommen werden. Dieser Umstand begünstigt eine vereinfachte Ausgleichs- und Fehlerrechnung wesentlich.

Da es für die Beurteilung der Wirksamkeit immer auf die verhältnismäßige Genauigkeit ankommt, müssen die Zeitabstufungen auf alle Fälle als Glieder einer geometrischen Reihe gewählt werden, deren Schritte



Protokoll eines Desinfektionsversuches, zugleich seine graphische Darstellung.

je nach der erwünschten Genauigkeit der Feststellung als 1:2 bis 1:1,4 anzusetzen wären[1]).

Es empfiehlt sich nun, für die Vereinfachung der Rechnung die Konzentrationsschritte ebenfalls verhältnismäßig, und zwar am besten im gleichen Verhältnisse wie die Zeitschritte anzuordnen. Verschiedene Schritte bei Zeit und Konzentration machen die Berechnungen naturgemäß wieder verwickelter. Bei unserem folgenden Berechnungsbeispiele soll, um die weitestgehende Vereinfachung zu erreichen, durchwegs das

1) l. c. S. 498.

Verhältnis 1:2 als Stufe beider Veränderlicher verwendet werden. Diese verhältnismäßig gleichen Wertstufen bilden, fortlaufend beziffert, ein logarithmisches Koordinatensystem, und zwar mit der Basis 2, ein System, in welchem sich die der Wirkungsgleichung entsprechende höhere Hyperbel als eine Gerade darstellen muß, so daß sich damit unsere nächste Aufgabe in die bekanntlich sehr einfache der Ausgleichung einer Geraden verwandelt.

Zur graphischen Auswertung der Versuche benützt man am zweckmäßigsten als Koordinatensystem sogleich das in geeigneter Weise angelegte Versuchsprotokoll, das bereits die Ablesung einiger Daten und die einfache Berechnung solcher ohne weiteres ermöglicht. Ein derartiges Versuchsprotokoll zeigt in den wagrechten Stäben einer quadratischen Teilung die Stufen der Konzentration, von links nach rechts ansteigend, in den lotrechten die Stufen der Einwirkungszeit, von unten nach oben ansteigend. Der Zeit- und Konzentrationswert von 1 erhält nun die Bezeichnung 0 und, indem man vom Nullwert aus nach links und rechts, sowie nach unten und oben auszählt, werden den anderen Stufen die entsprechenden positiven und negativen Werte der einfachen Zahlenreihe zugeteilt. In dieses Koordinatennetz werden nun zunächst wie in eine gewöhnliche Tabelle die Ergebnisse des Versuches mit + und —, dann in einer anderen Farbe oder Form (hier als schräge Kreuze) die als Beobachtungen anzunehmenden Einzelpunkte in der geometrischen Mittellage des Zeitwertes der letzten angewachsenen und der ersten abgetöteten Probe eingezeichnet.

Die Wirkungsgleichung lautet jetzt $np + t = r$, worin $p = \log_2 P$, $t = \log_2 T$ und $r = \log_2 R$ bedeutet. Durch Mittelung der Abstände (p, t) der einzelnen Punkte von den Achsen erhält man auf einfache Weise die Koordinaten des Schwerpunktes aller Beobachtungen (p_s, t_s), durch den die Gerade der Gleichung unbedingt gehen muß. Durch Multiplikation mit log 2 sind jederzeit leicht alle Maße im dekadischen Logarithmensystem und daraus deren Numeri zu gewinnen. In unserem Beispiel ergibt sich:

p	t
-3	$+4{,}5$
-2	$+3{,}5$
-1	$+3{,}5$
0	$+2{,}5$
$+1$	$+1{,}5$
$-5:5 = -1{,}0 = \boldsymbol{p_s} = \log_2 P_s$	$+15{,}5:5 = \mathbf{3{,}1} = \boldsymbol{t_s} = \log_2 T_s$
$\log P_s = -0{,}301 = 0{,}6990 - 1$	$\log T_s = 3{,}1 \cdot 0{,}301 = 0{,}9230$
$\boldsymbol{P_s} = \mathbf{0{,}50}$	$\boldsymbol{T_s} = \mathbf{8{,}57}$

Nun wird zur Ermittlung des Richtungswertes vorübergehend der Mittelpunkt des Koordinatennetzes in den Schwerpunkt verlegt, indem für jeden der Punkte des Versuches die Abstände $(\mathfrak{p}, \mathfrak{t})$ von den im Bilde punktiert gezeichneten Achsen dieses Koordinatennetzes als die Differenzen $p - p_s$ und $t - t_s$ abgelesen werden.

Unsere Wirkungsgleichung wird damit auf die Form $n\mathfrak{p} + \mathfrak{t} = 0$ vereinfacht, in der der rechnerische Ausgleich der von der Geraden abweichenden Einzelbeobachtungen unschwer möglich ist: für jeden der Punkte, deren Zahl in der Versuchsreihe λ heißen möge, ist die Abweichung der Beobachtung und der Berechnung

$$v_1 = n\,\mathfrak{p}_1 + \mathfrak{t}_1,$$
$$v_2 = n\,\mathfrak{p}_2 + \mathfrak{t}_2,$$
$$\dots\dots\dots$$
$$v_\lambda = n\,\mathfrak{p}_\lambda + \mathfrak{t}_\lambda$$

wobei die Bedingungen zu Recht bestehen, daß

1. $\Sigma v = 0$, was für alle durch den Schwerpunkt gehenden Geraden zutreffen muß;

2. $\Sigma v^2 =$ Minimum, was für den besten n-Wert erforderlich ist.

Daraus folgt:

$$\Sigma v^2 = \mathfrak{t}_1^2 + 2\mathfrak{t}_1\,\mathfrak{p}_1\,n + \mathfrak{p}_1^2\,n^2 + \dots + \mathfrak{t}_\lambda^{\;2} + 2\,\mathfrak{t}_\lambda\,\mathfrak{p}_\lambda\,n + \mathfrak{p}_\lambda^{\;2}\,n^2$$

$$\frac{d\,\Sigma v^2}{d\,n} = 0 = 2\,\mathfrak{t}_1\,\mathfrak{p}_1 + 2\,\mathfrak{p}_1^2\,n + \dots + 2\,\mathfrak{t}_\lambda\,\mathfrak{p}_\lambda + 2\,\mathfrak{p}_\lambda^2\,n$$

$$n = \frac{-\Sigma\,(\mathfrak{p}\,\mathfrak{t})}{\Sigma\,(\mathfrak{p}^2)}.$$

In unserem Zahlenbeispiel ergibt sich:

$\mathfrak{p}$	$\mathfrak{t}$	$\mathfrak{p}^2$	$\mathfrak{p}\mathfrak{t}$
-2	$+1,4$	4	$-2,8$
-1	$+0,4$	1	$-0,4$
0	$-0,4$	0	0
$+1$	$-0,6$	1	$-0,6$
$+2$	$-1,6$	4	$-3,2$

$$\Sigma\,(\mathfrak{p}^2) = 10; \quad \Sigma\,(\mathfrak{p}\,\mathfrak{t}) = -7,0$$

$$\boldsymbol{n} = \frac{-\Sigma\,(\mathfrak{p}\,\mathfrak{t})}{\Sigma\,(\mathfrak{p}^2)} = +\,\mathbf{0,70}.$$

Nun kann die Wirkungsgleichung auch schon gezeichnet werden, indem vom Schwerpunkte ausgehend um eine Reihe wagrecht nach links geschritten und durch senkrechte Auftragung von n Einheiten ein zweiter Punkt der Geraden gefunden wird, weil ja n geometrisch den Tangens des Neigungswinkels der Geraden bedeutet.

Jetzt kann der Mittelpunkt des Koordinatennetzes wieder zurückverlegt werden. Der Wert r ist dann als Ordinate des Schnittpunktes der Geraden mit der Ordinatenachse abzulesen. Zu berechnen ist der Wert r aus der Gleichung der Geraden und den Koordinaten des Schwerpunktes als $r = np_s + t_s$.

In unserem Beispiel bedeutet dies $r = -1 \cdot 0,7 + 3,1 = 2,4$; daraus ist $\log R = r \log 2 = 0,722$ und $R = 5,27$. Damit kann auch bereits die Wirkungsgleichung selbst angeschrieben werden:

$$\boldsymbol{P^{0,7} \cdot T = 5,27}.$$

Daraus ergeben sich bekanntlich rechnerisch oder durch die graphische Ablesung alle Kombinationen von Konzentration und Abtötungs-

dauer, womit auch der Vergleich mit anderen in gleicher Weise behandelten Versuchen möglich wird. Streng vergleichbar erscheint aber immer nur ein mit dem gleichen Testmaterial gleichzeitig angestellter Versuch, wie er in der Regel nur als Resistenzprüfung gegenüber Karbolsäure bei einer Konzentration vorliegt. Da aber für bekannte Mittel der Verlauf der Wirkungsgleichung bekannt ist, genügt es auch bloß einen Punkt dieser Vergleichskurve festzulegen. In unserem graphischen Protokoll ist z. B. auch die festgestellte Karbolsäure-Resistenz eingetragen und die Karbolgleichung $P^7 \cdot T = R$[1]) als Gerade ausgezogen. Es kann hier der Rideal-Walkersche Karbolsäurekoeffizient des untersuchten Mittels aus dem wagrechten Abstande p_k des r_k-Wertes von der Wirkungsgeraden des Mittels abgelesen werden. Der Abstand beträgt hier im $\log_2$-System — 5,86, also in dekadischen Logarithmen — 1,764 = 0,236 — 2, so daß der reziproke Koeffizient 0,01722 oder $^1/_{58}$ beträgt. Das Bild lehrt aber zugleich, wie ungerechtfertigt es wäre, auf Grund einer solchen Erhebung das geprüfte Mittel schlechthin als 58mal stärker als Karbolsäure zu bezeichnen. Die Berechnung dieser Zahl fällt weit aus dem Bereich der tatsächlichen Feststellungen heraus, ist also jedenfalls sehr ungenau. Hauptsächlich ist dagegen einzuwenden, daß der Vergleich der binnen 1—2 Stunden zureichenden Wirkung beider Mittel nur ein ganz einseitiges Bild gibt. Für eine Wirkung binnen 4 Minuten sind, wie aus der Überschneidung der beiden Geraden hervorgeht, die erforderlichen Konzentrationen schon gleich, für kürzere Zeiten wären von dem neuen Mittel sogar höhere Konzentrationen als von der Karbolsäure nötig.

Die nächste Aufgabe ist nun nach durchgeführter Ausgleichung der Versuchsergebnisse die Feststellung ihrer Zuverlässigkeit durch Anwendung der Fehlerrechnung. Vor allem ist festzustellen, welcher mittlere Fehler der Einzelbeobachtung anhaftet. Er ergibt sich aus der Quadratsumme der Abweichung der Beobachtungspunkte des Versuches von der berechneten Geraden nach der Formel: $m_t^2 = \frac{\Sigma f^2}{\lambda - 2}$, wobei λ wieder die Zahl der Einzelbeobachtungen bedeutet und der Abzug von 2 erfolgen muß, weil die Berechnung der Geraden mindestens zwei Punkte erfordert hätte, so daß $(\lambda - 2)$ die Zahl der Überbestimmungen bedeutet. Der Fehler der Einzelbeobachtung stellt sich dar als Differenz zwischen Beobachtung und Berechnung, $f = t - (r - n\,p)$. Für unseren Fall heißt dies also:

		f^2
$f_1 = 4{,}5 - [2{,}4 - (0{,}7 \cdot -3)] =$	0,0	0,00
$f_2 = 3{,}5 - [2{,}4 - (0{,}7 \cdot -2)] =$	− 0,3	0,09
$f_3 = 3{,}5 - [2{,}4 - (0{,}7 \cdot -1)) =$	+ 0,4	0,16
$f_4 = 2{,}5 - [2{,}4 - (0{,}7 \cdot -0)] =$	+ 0,1	0,01
$f_5 = 1{,}5 - [2{,}4 -)0{,}7 \cdot +1)] =$	− 0,2	0,04
	$\Sigma f^2 =$	0,30

$$m_t = \sqrt{\frac{\Sigma f^2}{\lambda - 2}} = \sqrt{\frac{0{,}30}{3}} = \pm 0{,}316.$$

---

1) s. Kanao, Zur Desinfektionswirkung der Kresole, Archiv für Hygiene, 1924, Bd. 92, S. 139.

Aus m_t ergibt sich durch Multiplikation mit log 2 der Wert $m_{\log T} = \pm 0{,}0952$ in dekadischen Logarithmen, dessen Numerus 1,246 oder 0,803 lautet. Der verhältnismäßige mittlere Fehler des T-Wertes beträgt also das 1,246fache nach oben und das 0,803fache nach unten oder der durchschnittliche Wert von T schwankt nach oben und unten um 24,6 und 19,7 %. Die sich hier ergebende Fehlerbreite von durchschnittlich $\pm$ 22,1 % des Zeitwertes steht mit der entsprechend der Anordnung unseres Versuches zu erwartenden in gutem Einklange. Da das geometrische Mittel eines Intervalles 1:2 von dessen Grenzen durchschnittlich um 35 % seines Wertes abweicht, so berechnet sich dieses Intervall als die 1,6fache Fehlerbreite nach oben und unten, was schon eine 80-prozentige Wahrscheinlichkeit dafür bedeutet, daß der Wert in diese Grenzen fällt.

Die graphische Darstellung der Fehlerbreite geschieht durch zwei gestrichelte Parallele zur Wirkungsgeraden im Ordinatenabstande von $m_t = \pm 0{,}316$. Wie bekannt, liegen bei regelmäßiger Streuung rund zwei Drittel der Einzelbeobachtungen innerhalb dieser Grenzen. In unserem Beispiel sind es 3 von 5 Beobachtungen, eine 4. liegt auf der Grenze selbst.

Es bleibt nun noch der mittlere Fehler der für n und r errechneten Werte anzugeben. Er ergibt sich durch Division des mittleren Fehlers der Beobachtungen durch die Quadratwurzel der Gewichte von n und r: $M_n = \frac{m_t}{\sqrt{\pi_n}}$; $M_r = \frac{m_t}{\sqrt{\pi_r}}$. Das Gewicht der Werte für n und r folgert sich aus der Gaußschen Fehlerrechnung für Funktionen mit 2 Unbekannten als ein Quotient, dessen Zähler die Differenz des Produktes der Quadratsummen der partiellen Differentialquotienten der entwickelten Funktion nach jedem der beiden Werte und des Quadrates der Produktsumme beider Differentialquotienten enthält, dessen Nenner die Quadratsumme jenes Differentialquotienten ist, der sich auf die andere Unbekannte als unabhängige Variable (n oder r) bezieht.

Die Durchführung dieser scheinbar so verwickelten Rechnung gestaltet sich dadurch sehr einfach, daß sich die Funktion $t = r - pn$ mit dem r-Wert immer um gleiche Schritte, mit dem n-Wert um das $-p$-fache von dessen Schritten ändern muß, mit anderen Worten: die Partiellen lauten:

$$a = \frac{\delta t}{\delta r} = 1; \quad b = \frac{\delta t}{\delta n} = -p.$$

Durch Einsetzung der Werte für n und r in die obige Gewichtsdefinition:

$$\pi_n = \frac{\Sigma a^2 \Sigma b^2 - (\Sigma ab)^2}{\Sigma a^2} \quad \text{und} \quad \pi_r = \frac{\Sigma a^2 \Sigma b^2 - (\Sigma ab)^2}{\Sigma b^2}$$

folgt für

$$\pi_n = \frac{\lambda \Sigma (p^2) - (\Sigma p)^2}{\lambda} = \boldsymbol{\Sigma (p)^2 - \frac{(\Sigma p)^2}{\lambda}};$$

$$\pi_r = \frac{\lambda \Sigma (p^2) - (\Sigma p)^2}{\Sigma (p^2)} = \boldsymbol{\lambda - \frac{(\Sigma p)^2}{\Sigma (p^2)}},$$

worin $\Sigma\,(p^2)$ ein Maß der Ausgedehntheit der Versuchsanordnung, $(\Sigma\,p)^2$ ein solches ihrer asymmetrischen Lage zum Konzentrationswert 1% darstellt. Das Gewicht der Feststellung des Richtungswertes hängt also in erster Linie von der Weite der Versuchsanordnung, das Gewicht der Feststellung des Resistenzwertes von der Zahl der Versuche ab, beide Gewichte vermindern sich mit wachsender Asymmetrie, aber um so weniger, je größer im ersteren Falle die Anzahl der Fälle, im letzteren die Weite der Versuchsanordnung ist.

Für unser Beispiel ergibt sich durch Kopfrechnung:

$$\pi_n = 10 \text{ und } \pi_r = 3{,}3.$$

Daraus erhält man als Fehler der errechneten Werte:

$$\text{für } n \ldots . \; M_n = \frac{m_t}{\sqrt{\pi_n}} = \frac{\pm 0{,}316}{\sqrt{10}} = \pm 0{,}10,$$

$$\text{für } r \ldots . \; M_r = \frac{m_t}{\sqrt{\pi_r}} = \frac{\pm 0{,}316}{\sqrt{3{,}3}} = \pm 0{,}17,$$

so daß sich die Werte für n und r darstellen als

$$n = 0{,}70 \pm 0{,}10,$$
$$r = 2{,}40 \pm 0{,}17,$$

wobei sich aus r durch Multiplikation mit log 2 der Wert im dekadischen Logarithmensystem R berechnet: $\log R = 0{,}7220 \pm 0{,}0510$; so daß der Wert $R = 5{,}27$ nach oben um 12,5%, nach unten um 11,1%, im Durchschnitt also um 11,8% seines Wertes schwankt.

Diese Feststellung der Genauigkeit der ermittelten Werte für n und R erscheint für den Vergleich verschiedener Versuche über dasselbe Mittel bei gleichem Testmaterial erforderlich, einmal, um sagen zu können, ob und inwieferne solche Ergebnisse einander widersprechen oder einander stützen, dann aber auch für die naheliegende Aufgabe, das Ergebnis mehrerer Versuche zu mitteln.

Wenn z. B. neben der bisher wiedergegebenen Versuchsgruppe noch zwei solche, die eine mit 3, die andere mit 6 Einzelversuchen, vorliegen, wofür die in der Übersicht wiedergegebenen Werte für n und r gefunden wurden, so ergeben sich die entsprechenden Mittelwerte als Zusammenfassung aller drei Versuchsgruppen wie folgt:

Versuchsgruppe	λ	$n \pm M_n$	π_n	v_n	$\pi\, v_n$	$\pi\, v_n^2$
I.	5	0,70 ± 0,10	10	+ 0,068	+ 0,68	0,0460
II.	3	0,75 ± 0,14	8	+ 0,118	+ 0,94	0,1114
III.	6	0,54 ± 0,07	17,5	— 0,092	— 1,61	0,1482
$\nu = 3$	$\Lambda = 14$	$n_m = 0{,}632$	$\Sigma\pi_n = 35{,}5$		$\Sigma\pi v_n = 0$	$\Sigma\pi v_n^2 = 0{,}3056$

Versuchsgruppe	λ	$r \pm M_r$	π_r	v_r	$\pi\, v_r$	πv_r^2
I.	5	2,40 ± 0,17	3,33	— 0,46	+ 1,53	0,706
II.	3	2,42 ± 0,276	2,18	— 0,48	+ 1,05	0,501
III.	6	1,19 ± 0,159	3,39	+ 0,76	— 2,58	1,910
$\nu = 3$	$\Lambda = 14$	$r_m = 1{,}944$	$\Sigma\pi_r = 8{,}90$		$\Sigma\pi v_r = 0$	$\Sigma\pi v_r^2 = 3{,}117$

$$M_{n_m} = \sqrt{\frac{\Sigma \pi v_n^2}{(\nu - 1)(\Sigma \pi_n)}} = \pm 0{,}0656. \qquad M_{r_m} = \sqrt{\frac{\Sigma \pi v_r^2}{(\nu - 1)(\Sigma \pi_r)}} = \pm 0{,}417.$$

$n_m = 0{,}632 \pm 0{,}0656$; $r_m = 1{,}944 \pm 0{,}417$; $\log R_m = 0{,}5852 \pm 0{,}1255$; $R_m = 3{,}848$ mit einer durchschnittlichen Variation von 29,3 % des Wertes nach oben und unten.

Es lautet also der n-Wert, der die Natur der Wirkung beschreibt, in den drei Versuchsgruppen ähnlich genug, um den Verlauf der Wirkungsgleichung hier durch drei solche Versuchsgruppen schon innerhalb enger Fehlergrenzen festlegen zu können. Der R-Wert, der ja von der Resistenz des jeweiligen Testmateriales abhängt, schwankt innerhalb der drei Versuche naturgemäß stark. Die Errechnung auch dieses Variationsmaßes erscheint von Wichtigkeit, um durch Hinzufügen des dreifachen Wertes zum Mittel das mutmaßliche Maximum der vorkommenden Resistenz zum Zwecke der Aufstellung praktischer Desinfektionsvorschriften zu erhalten.

Wenn man für die Abstufung von Zeit und Konzentration verschiedene Schritte verwendet hat, so werden die Berechnungen, wie eingangs erwähnt, etwas verwickelter, der Gang der Rechnung bleibt jedoch durchaus der gleiche. Man kann zunächst unter Beibehaltung des quadratisch geteilten Versuchsprotokolles in jeder der beiden Richtungen ein Logarithmensystem mit der Basis der gewählten Abstufung, d. h. den dekadischen Logarithmus des Stufenverhältnisses als Einheit der Koordinaten annehmen. Es bleibt dann nur zu beachten, daß für graphisch gleiche Zeit- und Konzentrationsschritte verschiedene rechnerische Werte gelten. In diesem Falle ergibt sich aus den in gleicher Weise wie oben gefundenen $\mathfrak{p}$- und $\mathfrak{t}$-Werten ein Richtungswert n', der zwar der graphischen Darstellung entspricht, aus dem aber der richtige n-Wert erst durch Multiplikation mit dem Verhältnisse der beiden Einheiten zu gewinnen ist. Die Werte für r, f, M_t und M_r berechnen sich unter Benützung der n'-Wertes in den Einheiten der Zeitabstufung, der Wert für M_n' in der gleichen Einheit wie n'.

Man kann aber auch von der quadratisch geteilten Darstellung abgehen und sogleich eine solche wählen, die die richtigen Größenverhältnisse der beiden Koordinaten in einer Einheit aufweist; als solche Darstellung empfiehlt sich die graphische Eintragung der Versuchsergebnisse auf einem doppellogarithmischen Papiere (Schleicher und Schüll, Nr. 365½), wobei als gemeinsame Einheit der dekadische Logarithmus von 10 erscheint. Dieses letztere Verfahren der Darstellung und entsprechenden Rechnung empfiehlt sich besonders dann, wenn die Schritte von Zeit und Konzentration unregelmäßig liegen oder überhaupt nicht verhältnismäßig gleich angeordnet sind. Die Ungleichheit der entscheidenden Überimpfungsintervalle in der logarithmischen Darstellung und Rechnung ist sodann in der Weise zu berücksichtigen, daß einem beliebig gewählten Überimpfungsintervall, etwa dem im Versuchsplan beabsichtigten oder auch dem größten vorkommenden der Gewichtswert 1 zugeordnet wird, während das Gewicht der anderen Versuchsergebnisse nach der jeweiligen Größe des entscheidenden Überimpfungsintervalles bewertet wird, wo-

bei z. B. der halben Intervallgröße das doppelte Gewicht zukommt. Die Berechtigung dieses Vorgehens ergibt sich aus der Überlegung, daß das Ergebnis eines Versuches mit dem einfachen Intervall gleichwertig erscheint mit dem Ergebnisse zweier Versuche mit doppelten Intervallen, die sich zur Hälfte überdecken.

Zusammenfassung.

Die richtige Aufstellung von Vorschriften für die Praxis der Desinfektion verlangt ebenso wie die Erforschung der entscheidenden Abtötungsbedingungen die genaue zahlenmäßige Feststellung der Wirkungsart und -stärke der einzelnen Mittel und ihres Vergleiches untereinander. Eine einheitliche Wertbestimmung und Begutachtung der Desinfektionsmittel setzt also die bisher unübliche Anwendung der Ausgleichs- und Fehlerrechnung voraus. Es wird im vorstehenden gezeigt, auf welche Weise deren Durchführung bei bestimmter Anordnung der Versuche und Protokolle durch Einführung logarithmischer Maßeinheiten unschwer und rasch möglich ist. Auch für minder einfache Fälle wird die grundsätzlich gleichartige Verfahrungsweise kurz angegeben.

Zur Frage der Menschenubiquität des Diphtheriebazillus.

Von

Dr. med. **Walter Saleck,**

Assistent des Instituts.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Tübingen. Vorstand: Prof. Dr. K. Wolf.)

(Bei der Redaktion eingegangen am 16. Oktober 1926.)

Wiltschke[1]) ist auf Grund des Ergebnisses seiner an Kindern der Grazer Kinderklinik vorgenommenen regelmäßigen Untersuchungen auf Diphtheriebazillen zu dem Schluß gekommen, daß der Diphtheriebazillus menschenubiquitär ist. Vor ihm hat schon Lietz[2]) in Mainz dieselbe Ansicht geäußert. Da wir im hiesigen Institut schon seit Jahren unter den vielen von auswärts und von der Kinderklinik einlaufenden Abstrichen, die auf Diphtheriebazillen zu untersuchen waren, relativ wenig positive fanden, so unternahm ich es ebenfalls, in systematischer Weise ein Jahr lang sämtliche Kinder der Kinderklinik und des ihr angegliederten Säuglingsheims gleich bei der Aufnahme und dann während ihres Klinikaufenthalts wöchentlich auf die Anwesenheit von Diphtheriebazillen im Nasenrachenraum zu untersuchen. Die Abstriche wurden bei der Aufnahme von Rachen und Nase[3]), daraufhin abwechselnd in einer Woche vom Rachen, in der anderen von Rachen und Nase[3]) usf. genommen, wobei darauf geachtet wurde, daß sorgfältig und energisch abgestrichen wurde. An dieser Stelle sei es mir gestattet, Herrn Prof. Dr. Birk, dem Vorstand der Kinderklinik, für das freundliche Entgegenkommen der Klinik verbindlichst zu danken.

Es wurden in der Zeit vom 17. Juni 1925 bis 16. Juni 1926 insgesamt 446 Kinder, die hauptsächlich aus der näheren und weiteren Umgebung Tübingens und aus dem südlichen Württemberg stammten, untersucht. Die Zahl der bakteriologischen Untersuchungen betrug 2105[3]). Die Kulturen wurden auf Löfflerserum angelegt. Nach durchschnittlich 15 Stunden Brutschrankaufenthalt wurden Präparate angefertigt und diese nach Neisser gefärbt.

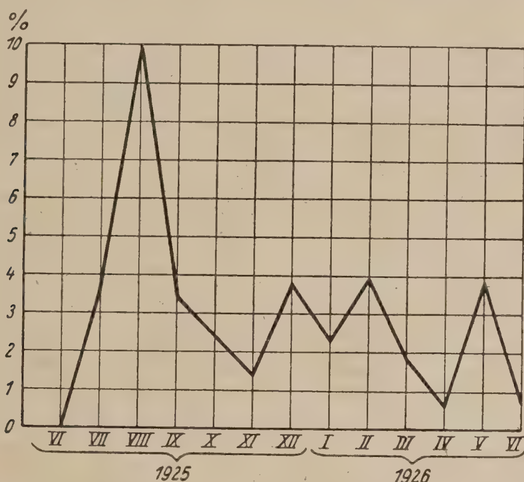
---

1) Wiltschke, Franz, Diphtherieuntersuchungen an Kindern. I. Mitteilung: Über Bazillenträger. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten. **104.** 1925. 370—376.

2) Lietz, F. H., Über Diphtherie der Neugeborenen. Monatsschrift für Geburtshilfe und Gynäkologie. **52.** 340—346.

3) In der Statistik als eine Untersuchung gerechnet.

Gleich bei der Aufnahme positive Befunde wurden bei Säuglingen und Kleinkindern bis zu 1½ Jahren in 5,4% der Fälle erhoben, bei Kindern über 1½ Jahren nur in 2,1% der Fälle. Insgesamt wurden von allen untersuchten Kindern, solange sie in der Klinik waren, 8,3% als Bazillenträger festgestellt. Von den bei der Aufnahme gefundenen Bazillenträgern erkrankten im weiteren Verlauf ihres Klinikaufenthalts 2 Kinder im Alter von 4 Wochen und von 11 Monaten an klinischer Nasendiphtherie, das sind 12,5%. Von den bei der Aufnahme gesunden Kindern wurden während der Beobachtungszeit, die sich bei meinen Fällen zwischen einer einmaligen und 48maliger Untersuchung bewegte, rund 5,4% vorübergehend Bazillenträger. Von ihnen waren genau die Hälfte Kinder unter 1 Jahr und die andere Hälfte ältere Kinder. Von diesen nachträglich zu



Kurve 1. Zahl der positiven Diphtheriebazillenfunde in Prozent der in den einzelnen Monaten gemachten Untersuchungen.

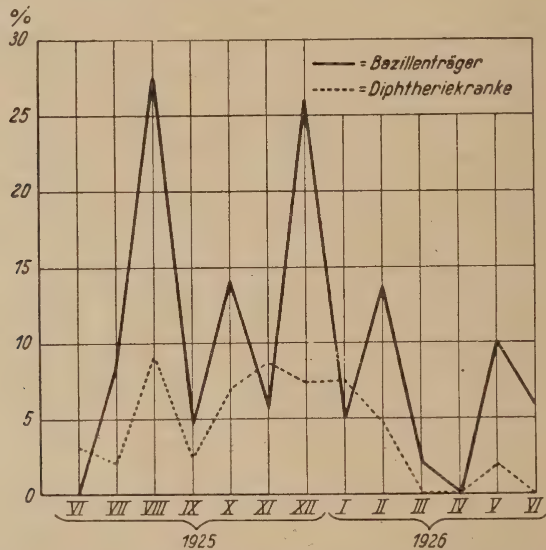
Bazillenträgern gewordenen Kindern wurden 3 = 14,3% diphtheriekrank, das sind auf die Gesamtzahl der untersuchten Kinder berechnet 0,72%. Von ihnen war ein Fall Rachen-, 2 Fälle Nasendiphtherie.

Versuche, festzustellen, ob sich in der Umgebung der Kinder vor ihrer Aufnahme in die Klinik Diphtheriekranke oder -Bazillenträger befanden, scheiterten an den unzuverlässigen oder fehlenden Angaben der Angehörigen; dies gilt insbesondere für die unehelichen Kinder.

In Kurve 1 sind die monatlichen Schwankungen der positiven Diphtheriebazillenbefunde in Prozent der in den einzelnen Monaten gemachten Untersuchungen dargestellt. Man sieht, daß sich die größte Zacke mit einer Häufigkeit von 9,9% im August, der bei uns im Jahre 1925 ausnahmsweise naß und kalt war, erhebt, daß dann die üblichen Zacken in den Wintermonaten folgen, und daß die Kurve, wieder einem nassen, unfreundlichen Frühsommer entsprechend, im Mai nochmals ansteigt. Es geht aus dieser Kurve deutlich hervor, daß die Witterung und somit

natürlich auch die Jahreszeit die monatlichen Schwankungen des Diphtheriebazillenvorkommens stark beeinflussen.

Die Kurven 2 und 3, bei welchen die Zahl der Bazillenträger mit derjenigen der Diphtheriekranken in Prozent der in den betreffenden Monaten untersuchten Fälle verglichen werden kann, zeigen weitgehende Übereinstimmung mit der Kurve 1. Ferner ist, wie bei Wiltschke, zu ersehen, daß die Morbiditätszahl ziemlich genau mit der Zahl des Bazillenträgertums geht. In ausgesprochener Weise zeitlich früher, als die Diphtheriekrankenkurve, steigt die Bazillenträgerkurve allerdings nur zweimal an, nämlich im Juli und im Oktober 1925. Doch bleibt während der steilen Zacken der Bazillenträgerkurve zwischen Oktober 1925 und Februar 1926 auch die Morbiditätskurve immer hoch. Jedenfalls steigt



Kurve 2 und 3. Zahl der Bazillenträger und der Diphtheriekranken in Prozent der in den einzelnen Monaten untersuchten Fälle.

mit der Zahl der Bazillenträger auch die der Diphtheriekranken. Nur erscheint es doch noch fraglich, ob die zeitliche Differenz zwischen beiden Ereignissen so groß ist, daß es praktisch einen Wert hat, durch die doch sehr viel Zeit fordernden Daueruntersuchungen großer Reihen, besonders gerade auch außerhalb der Klinik in Schulen usw., was hierzu nötig wäre, eine unmittelbar bevorstehende Zunahme der Diphtheriemorbidität zu ermitteln.

Übrigens habe auch ich die Beobachtung gemacht, daß bei einem großen Teil der klinisch einwandfrei festgestellten Diphtheriefälle bakteriologisch keine Diphtheriebazillen gefunden werden konnten, und zwar war dies in 4 = 23,5% der Fälle so.

Während nun, wie man sieht, die monatlichen Schwankungen der Diphtheriebazillenhäufigkeit und der Parallelismus zwischen Häufigkeit

von Diphtheriebazillenträgern und Diphtheriekranken, verglichen mit den Ergebnissen von Wiltschke, im Prinzip übereinstimmen, so gehen unsere Zahlen für die Diphtheriebazillenträger überhaupt mit 8,3% und für die bei der Aufnahme mit 5,42% respektive 2,1% gegen die Wiltschkes mit 19% respektive 16% und 10% weit auseinander, ebenso wie dies mit den Zahlen der von Wiltschke zitierten übrigen Autoren (l. c.) der Fall ist. Betrachtet man die ganze Reihe, so stehen die von mir gefundenen Werte an der unteren Grenze, sprechen also für eine geringe Häufigkeit des Vorkommens der Diphtheriebazillenträger hierzulande. Man muß sich nun aber doch fragen, woher diese großen Unterschiede kommen. Es kann hier nicht nur an der Verschiedenheit der Untersuchungstechnik liegen. Die Witterung, d. h. die örtlichen klimatischen Schwankungen (Lade[1]) scheint doch nur für die monatlichen Schwankungen verantwortlich gemacht werden zu können. Außerdem ist mein Untersuchungsjahr im Vergleich zu dem von Wiltschke, metereologisch im ganzen betrachtet, sicher nicht besser, sondern wohl im Gegenteil schlechter. Man könnte zur Erklärung dieser Unterschiede sagen, daß eben der Diphtheriebazillus weiterhin sich zurzeit in der absteigenden Phase seiner Virulenz und auch seiner Ausbreitungskraft befindet und in diesem Jahr auf ein noch tieferes Niveau in dieser Bewegung abgesunken ist. Doch treffen wohl alle diese Erklärungsversuche allein nicht das Richtige und sind unbefriedigend.

Ein wichtiger Faktor, der bisher noch zu wenig beachtet worden zu sein scheint, ist der Einfluß der Örtlichkeit als solcher, und ihrer klimatischen Verhältnisse auf das Leben der Mikroorganismen. Denn wie im übrigen Pflanzenleben, so spielen diese Verhältnisse auch in dem der Mikroorganismen ganz sicher eine große Rolle. Es sei hingewiesen auf das Vorkommen des Bakterium paratyphi A. Bei uns ein seltener Krankheitserreger, wurde er während des Krieges im Osten oft häufiger als Paratyphus B nachgewiesen[2]).

Es ist weiter bei der Herstellung von Nahrungs- und Genußmitteln bekannt, daß ganz bestimmte Erzeugnisse (Käse, Bier usw.) sich in besonderer Beschaffenheit nur an ganz bestimmten Örtlichkeiten gewinnen lassen, daß die gleichen Mikroorganismen, die hier die gewünschten Geruchs- und Geschmacksstoffe bilden, an andere Orte verbracht, vollkommen versagen.

Wenn die Ergebnisse der statistischen Erhebungen über die Häufigkeit der Diphtheriebazillenträger unter diesen Gesichtspunkten betrachtet werden, so lassen sich die verschiedenen, stark auseinandergehenden Zahlenwerte gerade dadurch verstehen, daß man diesen örtlichen Faktor mit in Rechnung stellt. Es gibt eben wohl sicher Bezirke, in denen der Diphtheriebazillus infolge günstiger lokaler Bedingungen gehäuft vorkommt, und andere Bezirke, wo für ihn ungünstige Lebensbedingungen

1) Lade, O., Die Säkularkurve der Diphtherie und die Brücknerschen Klimaperioden. Archiv für Kinderheilkunde. **71.** 1922. 30—40.

2) Lehmann, E., Zur Kenntnis des Paratyphus A. I. Geographische Verbreitung und Epidemiologie des Paratyphus A. Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten. Abt. I. Org. **78.** 1916. 49—72.

ihn wenig aufkommen lassen. Dadurch aber wird die Menschenubiquität wesentlich eingeschränkt zu einer „örtlich begrenzten Omniquität“. Diese örtliche Begrenzung könnte zu Epidemiezeiten, in denen der Bazillus ja eine um vieles gesteigerte Lebenstätigkeit und Lebensenergie entfaltet, zeitweise also, verwischt werden, dürfte sich aber wohl nach dem Abklingen der Epidemie wieder feststellen lassen.

Es wäre von großem Interesse, wenn unter diesem Gesichtspunkt an den verschiedenen Instituten gleichzeitig diese Bazillenträgeruntersuchungen ausgeführt würden, es ließen sich hierbei sicher sehr wertvolle vergleichend-bakteriologische Tatsachen ermitteln. In der bakteriologischen Literatur fällt es öfters auch bei anderen Arbeiten über ein und dasselbe Thema auf, daß trotz sorgfältigsten Experimentierens die Ergebnisse der an verschiedenen Orten befindlichen Autoren ziemlich stark voneinander abweichen. Auch hier würde vielleicht der Schlüssel zu den Unstimmigkeiten zu finden sein, wenn die Einflüsse der Örtlichkeit auf die verschiedenen Mikroorganismen und ihre Lebenstätigkeit festgelegt (standardisiert) wären.

Zusammenfassung.

1. Im südlichen Württemberg sind Säuglinge und Kleinkinder bis zu 1½ Jahren in 5,4% der Fälle, größere Kinder in 2,1% der Fälle Diphtheriebazillenträger.

2. Die monatlichen Schwankungen in der Häufigkeit des Bazillenträgertums und der Diphtheriemorbidität, wie auch der weitgehende Parallelismus beider wird in Übereinstimmung mit Wiltschke festgestellt.

3. Im südlichen Württemberg kann von Menschenubiquität des Diphtheriebazillus nicht geredet werden.

Vergleichende Untersuchungen über die Brauchbarkeit des Skarschen Keimzählungsverfahrens zur Bestimmung des Bakteriengehaltes der Milch.

Von
Professor **Hilgermann** und Dr. **Spranger**.

(Aus dem Pr. Hygienischen Institut Landsberg a. W. (Direktor: Professor Dr. Hilgermann).

(Bei der Redaktion eingegangen am 9. Dezember 1926.)

Zur Beurteilung der Milch auf ihre Brauchbarkeit als Genußmittel in hygienischer Beziehung stehen uns die Gärprobe, die Reduktaseprobe, die Gärreduktaseprobe, die Leukozytenprobe, die Säuretitrierung nach Soxhlet-Henkel, die Alkoholprobe, die Feststellung der Keimzahl, die Schmutzprobe zur Verfügung. Für die schnelle praktische Ausführung der hygienischen Milchkontrolle und ihrer anzustrebenden allgemein obligatorischen Durchführung sind u. E. nach drei Forderungen maßgebend:

1. Die Untersuchungsmethode muß einen zuverlässigen Indikator für die hygienische Beschaffenheit der Milch darstellen,
2. sie muß in ihrer Handhabung einfach und
3. sie muß billig sein.

Betrachtet man von den obigen drei Gesichtspunkten aus die zur Verfügung stehenden Untersuchungsmethoden, so ist zu bedenken, daß die bakterielle Verunreinigung der Milch es ist, die wir durch unsere Untersuchungen feststellen wollen. Der Keimgehalt ist der Indikator für die Verunreinigung. Ihn durch Reinlichkeitsmaßnahmen zu verringern, muß unsere Aufgabe sein, wollen wir den Milchkonsum heben und die Bevölkerung vor Erkrankungen schützen. Daß dies durch Reinlichkeitsmaßnahmen bereits beim Melken möglich ist, ist experimentell erwiesen (cf. Rullmann). Es ist ja auch selbstverständlich. Die obengenannten Untersuchungsmethoden gehen denn auch fast alle auf eine mehr oder weniger direkte Feststellung des Keimgehaltes hinaus, denn Säuerung und Katalase sind ja abhängig von der Bakterienflora. Von vornherein wird man also schon die direkte Bestimmung des Keimgehaltes als die Methode der Wahl für die Feststellung des Verunreinigungsgrades der Milch bezeichnen dürfen. In der Erkenntnis des Bakteriengehaltes als der Grundlage zur Bewertung der Milch haben die Amerikaner

in großzügiger Weise eine dementsprechende Kontrolle in vielen Städten in die Wege geleitet (Anderson, Hammerschmidt). In Leipzig hat man bei der Gewinnung von »Vorzugsmilch« ebenfalls die bakteriologische Kontrolle nach amerikanischem Muster eingeführt (Rühmekorf). Kuferath nennt die Feststellung der Keimzahl auf Nähragar und Gelatine an erster Stelle unter den Methoden zur Milchuntersuchung und Guerrera bezeichnet die Keimzählung im Plattenverfahren als die zuverlässigste Methode zur Feststellung des Verunreinigungsgrades der Milch, während von den anderen zu diesem Behuf angegebenen Methoden (Reaktion gegen Lakmus, Koagulierbarkeit beim Erhitzen und durch Alkohol, Katalasebestimmung, Reduktase) keine durchgängig befriedigende Resultate gab.

Die Methodik der Keimzahlbestimmung pflegt im allgemeinen das Plattenverfahren zu sein. Dieses erfüllt zwar die erste der von uns für die laufende hygienische Kontrolle der Milch geforderten Bedingungen, indem sie uns den Keimgehalt der Milch als den hygienischen Indikator anzeigt, in keiner Weise jedoch die zweite und dritte Bedingung. Die umständliche und kostspielige Ausführung (Dauer, Nährböden, Brutschränke) machen sie für eine Milchkontrolle im großen Maßstabe ungeeignet. So kommt Thöni zu dem Schluß: »Das Verfahren der Keimzählung ist, so wichtig seine Ergebnisse für die Beurteilung von Milchproben unter Umständen sein kann, (für die praktische Kontrolle) nicht anwendbar, weil seine Resultate zu spät, erst nach einigen Tagen zu gewinnen sind.« Es schien uns daher zur Feststellung des Keimgehaltes die Prüfung einer anderen Methodik wünschenswert, der dieser Mangel nicht anhaftet: nämlich die direkte Bestimmung der Keimzahl im mikroskopischen Präparat, die besonders von Skar ausgebaut wurde. Im Skarschen Verfahren ist uns eine Methode der bakteriologischen Milchuntersuchung in die Hand gegeben, welche die zweite und dritte der von uns aufgestellten Forderungen erfüllt: einfach in der Handhabung und billig im Betrieb. Ihre Ausführung ist kurz folgende: 5 ccm Milch werden in einem (bei 5 ccm graduierten) Reagenzglas mit 0,18 ccm Karbolmethylenblau gefärbt, dann alkalisiert, davon 0,2 ccm auf einen Objektträger abpipettiert, auf dem eine Zählfläche von 500 qmm abgeteilt ist, trocknen lassen. Unter dem Mikroskop Bakterien zählen mittels eines besonderen Mikrometerokulars, bei dem das Vorhandensein von einer Bakterie in dem kleinsten Quadrate 100 Millionen Bakterien pro ccm entspricht, von einer Bakterie im zweiten Quadrate 10 Millionen, und von 1 Bakterie in dem ganzen Kreis des Okularmikrometers 1 Million Bakterien. Wenn somit die Methodik einfach ist und ihre Anwendung durch die minimalen Betriebskosten billig, so erhebt sich nur die Frage, ob sie auch der ersten von uns gestellten Forderung entspricht und uns einen zuverlässigen Aufschluß über den Keimgehalt der Milch wirklich gibt. Diese Frage haben wir an einer Reihe von 87 Milchproben in der Weise geprüft, daß bei diesen Proben sowohl die Keimzählung mittels des Plattenverfahrens als auch mit der Skarschen Methode durchgeführt wurde, womit wir überhaupt die ganze Frage »direkte Bestimmung der Keimzahl« durch mikroskopische Zählung in einem auf den Objektträger auf eine bestimmte Fläche sehr

dünn ausgestrichenen Milchtropfen von bekannter Größe, oder indirekt durch Zählung der auf einem der bekannten bakteriologischen Nährböden in einer Petrischale entstandenen Kolonien (Grimmer) noch einmal aufgerollt haben, da dieselbe sowohl für die Zwecke der Wissenschaft als auch für die Zwecke der Praxis noch nicht genügend geklärt ist.

Für die Platten wurde als Nährboden Nähragar und Gelatine genommen. Von einer anaëroben Züchtung wurde abgesehen, da die dadurch erzielte höhere Ausbeute an Kolonien verhältnismäßig bedeutungslos bleibt. So stellt Schneider (der sie in diesem Zusammenhang angewandt hat) fest, daß »die Zahl der auf den Platten aufgehenden Keime um durchschnittlich das 1,14fache erhöht wird«. Nun, für eine Erzielung einer um noch nicht 15% höheren Keimzahl dürfte sich die Anaerobenkultur besonders in der Praxis erübrigen. Derartige Differenzen liegen innerhalb der Variationsbreite eines und desselben Versuchs. Die Größenordnungen, die hier interessieren, sind ganz anderer Art. Es kommt nicht darauf an, ob eine Milch z. B. 10000 oder 11400 Keime hat, sondern ob sie 10000 oder 20000 oder gar 100000 hat, kurz: nicht ein Bruchteil mehr oder weniger ist bei dem Vergleich zweier Milchproben entscheidend, sondern es interessieren nur Differenzen, die das um Einheiten, ja um dekadische Einheiten Vielfache voneinander ausmachen. Absolute Keimzahlbestimmungen können wir ja doch nicht geben, sondern nur approximative Vergleichswerte.

Bei der Auszählung der Milchproben nach dem Skarschen Verfahren wurde so verfahren, daß einmal die sämtlichen in dem Gesichtsfeld vorhandenen Bakterien in der Weise ausgezählt wurden, wie dies Skar verlangt, indem also jeder Kokkus eines Kokkenhaufens mitgezählt wurde, während außerdem jeweilig eine zweite Zählung derselben Gesichtsfelder in der Weise vorgenommen wurde, daß nur die einzelliegenden Bakterien und die Bakterienhaufen als je eine Einheit gezählt wurden. Und zwar aus folgendem Grunde: A priori wird man bei dem direkten Verfahren der mikroskopischen Zählung eine höhere Keimzahl zu erwarten haben als mit der Plattenmethode, da man einerseits die bereits abgestorbenen Bakterien, die auf der Platte nicht mehr angehen, mitzählt, andererseits aber auch insofern auf der Platte weniger Bakterien in Erscheinung treten, als die Bakterienhaufen doch nur zu einer sichtbaren Kolonie auswachsen. Wenn wir dementsprechend diese Haufen auch bei der mikroskopischen Zählung nicht auszählen, sondern als Einheiten aufführen, so wird sich bei dem Vergleich zwischen Plattenverfahren und Skarscher Methode die Spanne zwischen den durch dieselben gewonnenen Keimzahlen wesentlich verringern müssen.

So sehen wir denn bei einem Vergleich der nach den drei Methoden gewonnenen Keimzählungsergebnisse (Plattenverfahren, Haufenzählung, Auszählung nach Skar) untereinander folgendes (cf. Tabelle 1).

Während also das Originalverfahren nach Skar mit seiner Auszählung jedes einzelnen Bakteriums auch der Bakterienhaufen in über 60% der Fälle über das Fünffache der durch das Plattenverfahren erzielten Keimzahlen lieferte, ergab die Haufenzählung nur in noch nicht einmal 20% über das Fünffache hinausgehende Werte.

Tabelle I.

Es betrugen die Keimzählungsergebnisse im Verhältnis zum Plattenverfahren	1. nach dem Originalskarverfahren	2. nach der Haufenzählung
Das gleiche oder weniger	in 7.1 Prozent	in 26 Prozent
Das 1,1—2fache	„ 7,1 „	„ 20,5 „
„ 2,1—3 „	„ 4,2 „	„ 18,5 „
„ 3,1—4 „	„ 11,4 „	„ 9,1 „
„ 4,1—5 „	„ 8,6 „	„ 7,0 „
Das 1—5fache	in 38,4 Prozent	in 81,1 Prozent
„ 5,1—10 „	„ 20 „	„ 13 „
„ 10,1—15 „	„ 10,7 „	„ — „
„ 15,1—20 „	„ 11,4 „	„ — „
„ 20,1—25 „	„ 4,3 „	„ — „
„ 25,1—30 „	„ 5,7 „	„ 1,4 „
„ 30,1—35 „	„ — „	„ — „
„ 35,1—40 „	„ 3,8 „	„ — „
über 40fach	„ 5,7 „	„ 4,3 „

Für die Praxis wichtigere Aufschlüsse liefert uns die Untersuchung ein und derselben Milchprobe in verschiedenen Zeitabständen nach den drei Arten der Zählung. Sie allein ist ja eine Kontrolle für die Frage: Geht mit dem Ansteigen der Keimzahl im Plattenverfahren auch ein Ansteigen im Skarverfahren parallel? Nachfolgende Tabelle 2 zeigt uns zwei derartig untersuchte Proben:

Tabelle II.

Milchproben, untersucht in verschiedenen Zeitabständen:	Plattenverfahren	Skarverfahren	Haufenzählung
Nr. 29. Handelsübliche Molkereimilch . . .	0,4	1,3	0,9
Dieselbe nach 9 Stdn.	23	119,5	67,6
„ „ 24 „	169	730	330
Nr. 43. Handelsübliche Molkereimilch . . .	0,42	9	5,2
Dieselbe nach 9 Stdn.	2,2	29	11
„ „ 24 „	122	630	250

Keimzahl in Millionen; Untersuchungszeit: August.

Wir sehen also deutlich das zu erwartende Ansteigen der Zählungsergebnisse bei allen drei Arten der Zählung.

Wenn wir die technische Seite des Plattenverfahrens mit der des Skarverfahrens vergleichen, so ist zunächst gegenüber der Umständlichkeit und Kostspieligkeit der Plattenmethode die große Einfachheit und Billigkeit im Betrieb bei dem Skarverfahren hervorzuheben.

Eine Vereinfachung der Apparatur ist dadurch noch möglich, daß die Farblösung und die Natronlauge in Tropffläschchen verwendet wird. Durch einmalige Bestimmung der Tropfengröße läßt sich dann das umständliche Abpipettieren der 0,18 ccm Farblösung und der 0,02 ccm 30proz. Natronlauge durch einfaches Abtropfen ersetzen. Ein wichtiger Punkt,

der für das Skarverfahren spricht, ist auch die Schnelligkeit der Ausführung. Während das zeitraubende Plattenverfahren die Resultate erst nach 24—48 Stunden liefert, kann man das Resultat beim Skarverfahren nach dem Antrocknen auf dem Objektträger nach wenigen Minuten erhalten. Auch haben wir beim Skarverfahren immer die gleichen Versuchsbedingungen, während beim Plattenverfahren die Abhängigkeit der Keimzahl von variierenden Einflüssen der Nährbodenzusammensetzung die Erzielung vergleichbarer Werte sehr erschwert. Gerade diese Tatsache dürfte dazu führen, das Skarverfahren als die Methode der Wahl für große Reihenuntersuchungen auch zu rein wissenschaftlichen Zwecken zu verwenden.

Während bei dem Plattenverfahren nur die lebenden Keime in Erscheinung treten, erfassen wir mit der Skarmethode zum Teil auch abgestorbene Keime (soweit sie natürlich nicht schon ihre Färbbarkeit verloren haben). Dieses konnten wir sehr gut durch folgenden Versuch demonstrieren: Zählung der Keime in einer handelsüblichen Milch, Zählung in derselben Milch nach 10 Minuten langem Kochen und nach halbstündigem Pasteurisieren bei 63° (cf. Tabelle 3).

Tabelle III.

	Plattenverfahren	Skarverfahren	Haufenzählung	
Handelsübliche Milch	0,26	3,6	0,7	Millionen
Dieselbe nach 10 Min. langem Kochen	0,000,150	0,9	0,6	
Dieselbe nach Pasteurisierung	0,01	0,8	0,5	

Man sieht also, daß das Plattenverfahren bei soeben gekochter oder pasteurisierter, vorher keimreicher Milch hochgradige Keimarmut ergeben und dadurch wiederum bei der ja geschmacklich nicht veränderten pasteurisierten Milch frischgemolkene Milch vortäuschen kann. Dagegen sehen wir, daß das Skarverfahren in diesem Falle die Anwesenheit von — allerdings abgestorbenen — Keimen dartut. Obiges Beispiel zeigt deutlich die Verringerung der Keimzahl auch nach dem Skarverfahren durch das Erhitzen, da ja ein großer Teil der abgetöteten Bakterien seine Färbbarkeit verliert. Wir wissen nicht, ob nicht größere Mengen abgetöteter Keime in der Milch für den Säugling schädlich sind. Es dürfte daher obiger Versuch eine gewisse praktische Bedeutung haben, insofern als eine frische, keimarme Milch und eine ältere keimreiche, wenn pasteurisiert, mit dem Plattenverfahren beide höchst keimarm erscheinen, mit dem Skarverfahren dagegen verschieden hohen Keimgehalt erkennen lassen.

Ein Punkt, der zugunsten des Skarverfahrens gegenüber dem Plattenverfahren spricht, ist die Tatsache, daß man bei der Keimzählung nach Skar zugleich eine Zählung etwaiger Leukozyten vornehmen kann. Diese Beobachtung hebt das Skarverfahren in seiner Bedeutung für die praktische hygienische Milchkontrolle ganz erheblich über das Plattenverfahren

heraus. So konnten wir bei einer Kontrolle von Milchproben einer als »Vorzugsmilch« seit Jahren flaschenweise vertriebenen Milch eines Gutes einer kleineren Stadt unter 5 an verschiedenen Tagen hintereinander entnommenen Proben dreimal einen Leukozytengehalt der Milch von 1,6 bis 4 Millionen pro ccm feststellen. Hierdurch wurde eine kreistierärztliche Durchuntersuchung des betreffenden Tierstalles veranlaßt und eine Reihe von mastitiskranken und mastitisverdächtigen Kühen ausgeschieden. Das Plattenverfahren zeigte in diesen Fällen keine Besonderheiten, da der Keimgehalt zwar hoch, nicht aber auffallend höher als bei den leukozytenfreien Proben war. Gerade dieser Fall bildet eine gute Illustration zu der Überlegenheit der direkten Methode der Keimzählung gegenüber der indirekten auf dem Gebiete der hygienischen Milchkontrolle. Die Feststellung von durch Krankheitszuständen der Kühe bedingten Mängeln der Milch durch das Skarverfahren ist eine gute Ergänzung dieser Art der hygienischen Milchkontrolle.

Die Aufgabe dieser Kontrolle ist die Erfassung des Verunreinigungsgrades der Milch — als dessen Indikator der Keimgehalt anzusehen ist — mit dem Ziele der Verringerung der Verunreinigung. Die Möglichkeit, an Ort und Stelle den Produzenten die hygienischen Mängel sofort nachweisen zu können, kann viel zur Erziehung zur peinlichsten Sauberkeit beitragen. Eine so erzielte größte Reinlichkeit von Milchgewinnung und -vertrieb hat den doppelten Vorteil der Verbesserung der Qualität der Milch und der Erhöhung der Appetitlichkeit.

Gerade dieser letztere „ästhetische Standpunkt" dürfte in allererster Linie zu der im Interesse der Volksgesundheit und der Volkswirtschaft wünschenswerten Hebung des Milchkonsums führen, denn das Publikum wird vielfach mit Recht vom Milchverbrauch durch die unsauberen Gewinnungs- und Verkaufsmaßnahmen zurückgehalten. Zur Beseitigung letzterer, der zur Erhöhung der Keimzahl führenden Mißstände gibt die hygienische Kontrolle mittels des Skarverfahrens einen starken Anreiz und die Möglichkeit, jederzeit diese Kontrolle schnell auszuführen.

Dagegen haben für die Abwesenheit von pathogenen Keimen in der Milch die tierärztliche Kontrolle, die Untersuchung des Personals und die Dauerpasteurisierung zu sorgen.

Literatur.

Anderson, Public Health Reports, 1916, Bd. 31. — Grimmer in Kraus-Uhlenhuth, Handbuch, Bd. III. — Guerrera, Centralbl. Bakt. Ref. Bd. 61, 399. — Hammerschmidt, Zentralbl. Ges. Hyg., Bd. 5. — Kufferath, Ann. Inst. Pasteur 1919, 462. — Rühmekorf, Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene Bd. 31, 1921. — Rullmann, Centralbl. Bakt. I. Orig. Bd. 71, 165. — Schneider, Milchw. Centralbl. 1923, Bd. 52. — Skar, Centralbl. Bakt. Bd. 57, 1922. — Thöni, Centralbl. Bakt. I. Orig. Bd. 74, 1914.

Beiträge zur Diagnose der Bleivergiftung.

Von

Dr. med. **Otto Stickl**, II. Assistent am Institut.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Heidelberg. Stellvertretender Direktor: Professor Dr. med. et phil. E. G. Dresel.)

(Bei der Redaktion eingegangen am 30. Dezember 1926.)

Im Laufe dieses Jahres (1925) habe ich auf Anregung des Bad. Landesgewerbearztes, Herrn Prof. Dr. Holtzmann, eine Durchuntersuchung der gesamten Arbeiterschaft (86 männliche Personen) einer Blei-Schmelzhütte vorgenommen. Der Betrieb der betreffenden Fabrik bot den Arbeitern bei ihren täglichen Dienstleistungen reichlich Gelegenheit zur Bleiaufnahme in jeder denkbaren Weise (Beschmutzung der Hände und der Arbeitskleidung mit bleihaltigem Material, Einatmen von Bleistaub und von Bleidämpfen). Eine Gesundheitsschädigung durch Eindringen von Blei durch die unverletzte Haut konnte Süßmann (6) in Abrede stellen. Eine Besichtigung der Hände meiner Arbeiter ergab aber, daß von einer Unverletztheit der Haut der Hände im medizinischen Sinne gar keine Rede sein konnte. Die Haut war ausnahmslos rauh und wies zahlreiche Schrunden und Abschürfungen auf. Dazu kommt, daß in dem genannten Betrieb kaum ein Tag ohne schwerere Brandverletzungen vergeht. Die übliche Desinfektion der oft ausgedehnten Brandwunden mit Jod und Alkohol und das Anlegen eines sterilen Verbandes vermag natürlich die schädigende Einwirkung des Bleis auf das verletzte Gewebe nicht zu beseitigen. Respiratoren, welche von den meisten Arbeitern als sehr lästig empfunden werden, kommen nur ausnahmsweise (beim Reinigen der Bleikammern) in Anwendung und werden auch dann noch häufig ungeschickt bedient. Die gesetzlichen Vorschriften zum Schutze der Arbeiter stellen lediglich einen Appell an die Einsicht, die Gewissenhaftigkeit und den guten Willen der Arbeiter dar. Die Befolgung der Ratschläge und Warnungen ist schwer zu kontrollieren und auch mit gesetzlichem Zwange nicht zu erreichen.

Die Untersuchung der Arbeiter, welche schichtweise während der Dienstzeit erfolgte, wurde so umfassend als möglich vorgenommen. Eine großzügig-oberflächliche oder eine schematisierende Untersuchungsweise sind in gleicher Weise ungeeignet, die Anfangsstadien einer Bleivergiftung und die Wechselbeziehungen zwischen einer Bleischädigung und dem allgemeinen Gesundheitszustande aufzudecken.

Zu anamnestischen Studien über die Bedeutung des Alkohols für das Zustandekommen einer Bleivergiftung gab mein Material wenig Anlaß; nur 1 Arbeiter war ein Trinker, 9 tranken täglich 2—3 Glas Bier oder ¼—½ l Wein (11,1% Bleischädigung), 45 nahmen ähnliche oder kleinere Mengen nur an Sonn- und Feiertagen zu sich (44,4% Bleischädigung), 32 waren annähernd abstinent (34,7% Bleischädigung). Die Angaben der kümmerlich entlohnten Arbeiter machten im allgemeinen den Eindruck der Glaubwürdigkeit.

Weiterhin ergab die Anamnese nichts für eine Schädigung der Nachkommenschaft infolge der Bleiarbeit des Mannes. Dieses Problem kann wohl nur durch das Tierexperiment seiner Lösung näher gebracht werden. Für eine statistische Bearbeitung dieser Fragestellung bestehen zu viele Fehlerquellen (Verschweigen, Geschlechtskrankheiten, kriminelle Abtreibung).

Bei der Erhebung der Anamnese wurde ferner besonders auf früher überstandene Krankheiten geachtet. Es erheischt dies viel Geduld und Sorgfalt, da überstandene Leiden schnell in der Erinnerung verblassen und viele Arbeiter eine gewisse Interesselosigkeit für ihren Körper und dessen Gesundheitszustand an den Tag legen.

Aus dem Material der Statistik der Leipziger Krankenkasse und den damit gut übereinstimmenden eigenen Untersuchungen K. B. Lehmanns (2b) geht hervor, daß die Zahl der Krankheitstage der Bleiarbeiter im Durchschnitt wesentlich höher ist als die der Arbeiter in ähnlichen unfallarmen Betrieben ohne Bleigefahr. Ich versuchte einmal, zu untersuchen, inwieweit überstandene Krankheiten eine größere Anfälligkeit der Arbeiter für Blei zu bedingen scheinen.

Von den 86 untersuchten Arbeitern hatten vor Eintritt in die Schmelzhütte und vor ihrer Beschäftigung mit Blei überhaupt 36 ernstere und länger dauernde Krankheiten durchgemacht.

Es waren erkrankt an Infektionskrankheiten (ausschließlich Geschlechtskrankheiten) 24, an chirurgischen Erkrankungen (Unfälle, Kriegsverletzungen mit längerer Heilungsdauer der der per secundam int. geheilten Wunden) 4, an häufigem Muskelrheumatismus 1, an Nierenerkrankungen 1, an Magenleiden 2, an Herzfehler 1 (Mitralinsuffizienz), an langdauerndem Ekzem 1, an Rhachitis 1, an epileptiformen Anfällen 1.

Von diesen 36 Arbeitern waren 25 = 69,44% als bleigeschädigt anzusehen, 18 = 50,0% wiesen granul. Erythroc. auf, während auf die Gesamtzahl der 86 Arbeiter nur 46,10% Bleigeschädigte und 34,80% Granulaträger fielen.

Dieser Unterschied in der Häufigkeit der Bleischädigung tritt noch deutlicher bei den 24 früher von Infektionskrankheiten befallenen Leuten hervor. Die damalige Erkrankung lag innerhalb der letzten 2 Jahre vor dem Eintritt in die Bleiarbeit.

Von diesen Arbeitern, die alle während ihrer damaligen Krankheit in klinischer Behandlung standen, waren 4 an Grippe, 2 an Pneumonie, 1 an Tuberkulose, 1 an Angina mit tonsillärem Abszeß, 2 an Polyarthritis infect. acuta, 2 an Typhus, 2 an Ruhr, 1 an Milzbrandinfektion, 1 an Augeneiterung, 3 an Malaria, 1 an Sepsis, 1 an Furunkulose und 3 an Appendicitis acula erkranbt. 19 = 79,16% waren bleigeschädigt, 13 = 54,16% waren Granulaträger.

Die Erkrankungshäufigkeit unter diesen Arbeitern war also um 33,06% höher als bei der Gesamtzahl der Untersuchten.

Die einzelnen Infektionskrankheiten und die in der Anamnese verzeichneten anderen Krankheiten können hier keine besondere Berücksichtigung finden, da ihre absoluten Zahlen zu klein sind, um Zufälligkeiten auszuschließen. Immerhin

ist es auffallend, daß die 3 früher an Malaria erkrankten Patienten, von denen jetzt der eine 5 Monate, der andere 10 Monate und der letzte 3 ¼ Jahre im Bleidienst tätig ist und die sämtlich keine auf Malaria verdächtigen Symptome mehr aufwiesen, unter allen die größte Menge an basophil granul. Erythrozyten zeigten.

Sollten sich diese Resultate an einem größeren Material bestätigen, so wäre künftig bei der Einstellung von Arbeitern in Bleibetriebe mehr als bisher auf die Anamnese zu achten.

Auch die ungünstigen Lebensverhältnisse der Arbeiterschaft müssen wir heute mehr denn je berücksichtigen, wenn wir den allgemeinen Kräfte- und Ernährungszustand der Bleiarbeiter zu ihrer Berufsarbeit in richtige Beziehung setzen wollen. Der Einfluß der Abstammung und des Vorlebens war auffallend; die früheren Land-, Forst-, Straßen- und Kanalarbeiter, die Maurer und Schiffer (insgesamt ca. ⅓ der Arbeiter) ließen sich vielfach unschwer durch ihr gutes Aussehen aus den Leuten herausfinden. Sie stachen merklich von den schlecht ernährten, schlaffen, faltigen, welken und unharmonisch gebauten Großstadtleuten ab, denen die verflossenen schweren Jahre besonders zugesetzt hatten.

Die klinische Erfahrung lehrt uns, daß wir aus dem gesunden oder blassen Kolorit der Haut nicht ohne weiteres Schlüsse auf einen gesteigerten oder verminderten Gehalt des Blutes an roten Blutkörperchen und Hämoglobin ziehen dürfen. Die Erscheinung, daß Leute, welche sich bei geringer Körperbewegung hauptsächlich in Stubenluft und Fabrikräumen aufhalten, eine blässere Hautfarbe besitzen, beruht zum Teil vielfach auf mangelhafter Entwicklung der Hautgefäße infolge Fehlens von vasomotorischen Reizen durch Wind und Wetter; andererseits können mangelhafte Ernährung, schlechte Wohnungsverhältnisse, das Fehlen der Einwirkung von Licht und Sonne besonders bei jungen Leuten zu wirklichen Anämien führen, so daß wir zu ihrer Erklärung — wie Grawitz (14) hervorhebt — gar nicht erst besondere Luftgifte anzunehmen haben.

Wir dürfen gerade heute bei den Untersuchungen der Bleiarbeiter nicht jede Blässe der Haut der Bleieinwirkung zuschreiben, sondern eine Bleischädigung nur bei charakteristischer gelblich-fahler Hautfarbe (Bleikolorit) und bei auffallender Blässe in Betracht ziehen.

Von den 86 Arbeitern zeigten 26 eine normale Hautfarbe, 28 waren etwas blaß, bei 28 = 32,55% erreichte die Blässe einen sehr erheblichen Grad, während nur bei 4 = 4,65% ein ausgesprochenes Bleikolorit festzustellen war (kombiniert mit einer Hb-Verminderung auf 70% bei 3 Arbeitern, von denen außerdem einer eine deutliche Granulavermehrung aufwies, ein anderer in der Anamnese Klagen über früher häufig aufgetretene Leibschmerzen führte). Bei einem 25jährigen verheirateten Arbeiter, der erst seit 5 Monaten im Bleibetrieb am Schachtofen tätig war, stellte das Bleikolorit das einzige Symptom einer wahrscheinlichen Bleivergiftung dar, das bei der körperlichen Untersuchung erhoben werden konnte. Auch die Anamnese und die jetzige Lebensweise ergaben in diesem Falle nichts Belastendes. Dieser Fall scheint mir erwähnenswert zu sein, weil er uns zeigt, daß eine Bleischädigung erstmals und ausschließlich — auch bei fehlendem RiRo und fehlender Hb-Vermin-

derung — unter dem Symptom eines Bleikolorits auftreten kann. Die durch Bleieinwirkung bedingten Gefäßverengerungen brauchen je nach der Ausdehnung des befallenen Gefäßbezirkes nicht notwendigerweise in einer Blutdruckerhöhung ihren Ausdruck finden.

Setzen wir die Hautfarbe in Beziehung zum Hb-Gehalt des Blutes, so erhalten wir folgende Ergebnisse. Von den 28 Arbeitern mit sehr blassem Aussehen hatten nur 22 eine Verminderung des Hb-Gehaltes auf 75 bis 70%, während die anderen 6 einen Hb-Gehalt des Blutes von 80—85% aufwiesen, dazu aber noch andere Zeichen einer Bleischädigung zeigten.

Von 14 Arbeitern mit einem Hb-Gehalt des Blutes von 70% waren 4 etwas blaß, bei 7 erreichte die Blässe einen sehr erheblichen Grad, 3 hatten ein ausgesprochenes Bleikolorit.

Von den 86 Untersuchten insgesamt betrug der Hb-Gehalt des Blutes bei
14 = 70%,
26 = 75%,
38 = 80%,
8 = mehr als 80%.

Von den 14 Arbeitern mit einer Hb-Verminderung auf 70% hatten 2 keine anderweitigen sicheren oder auf Bleieinwirkung verdächtigen Symptome. Bei den übrigen 12 wurden beobachtet: 7mal Vermehrung der granul. Erythroc., 3mal Vermehrung der granul. Erythroc. + Bleisaum, 2mal Bleisaum allein.

Der Hb-Gehalt des Blutes wurde mit Hilfe der Talquistschen Skala bestimmt. Genauere Methoden (insbesondere Bestimmung des Funktionswertes des Hb) waren nicht anwendbar.

Die Zähne waren bei der Mehrzahl der Untersuchten sehr ungepflegt; bei 24 Arbeitern wurden schwere kariöse Veränderungen gefunden; zum Teil waren an Stelle der Zähne nur mehr alte, morsche und zerbrochene Zahnstummeln vorhanden. Eine Lockerung der Zähne wurde nur in 1 Falle beobachtet (gleichzeitig Hb-Verminderung auf 70%, basophil granul. Erythroc., dagegen kein Bleisaum). Von diesen 24 Arbeitern waren 15 als sicher bleigeschädigt anzusehen, aber nur 4 hatten einen typischen Bleisaum in Form eines schmalen, bläulich schimmernden Bandes an der Zahn-Zahnfleischgrenze. Ziemlich häufig war ein gelblich-weißer Niederschlag von Zahnstein.

Von allen 86 Untersuchten war nur bei 7 = 8,13% der Fälle ein Bleisaum nachzuweisen. Er bestand in allen Fällen in einem schmalen, stahlblau schimmernden Streifen am Übergang des Zahnfleisches auf den Zahnhals, und zwar beschränkte er sich bei 3 Arbeitern nur auf 1—2 nebeneinander liegende, nicht schadhafte Schneidezähne des Oberkiefers, während er sich bei den anderen 4 Fällen als fortlaufendes Band über die ganze vordere obere und untere Zahnreihe erstreckte.

Die Frage, ob das Blei ähnlich wie das Quecksilber auch in einer ganz gesunden Mundhöhle ohne das Vorhandensein schadhafter Zähne und sonstiger schon bestehender Entzündungsprozesse eine Stomatitis hervorrufen könne, ist seit den Untersuchungen K. B. Lehmanns (2a) an bleivergifteten Katzen nicht mehr zu bezweifeln.

Bei 2 meiner Bleisaumträger, die auch sonstige Anzeichen einer Bleischädigung hatten, war das Zahnfleichs polsterartig verdickt, von rotbläulicher Farbe und sehr empfindlich. Einer von diesen Patienten hatte sehr schadhafte Zähne, während sie bei dem anderen, abgesehen davon, daß die Zähne schlecht gepflegt waren und deutliche Spuren des Tabakrauchens aufwiesen, gut erhalten waren. Die Rötung der Schleimhaut griff teilweise auf die Schleimhaut der Wange und des harten Gaumens über.

Nicht gesehen habe ich Ulcerationen an der Gingiva und Wangenschleimhaut, ferner Veränderungen der Speicheldrüsen (vgl. Oliver (3), Claisse und Duprè (10)). Dagegen fiel mir auf, daß bei 10 Arbeitern, von denen zwar 5 bleikrank waren, aber nur 3 einen Bleisaum hatten, das Zahnfleisch im Gegensatz zu den übrigen sichtbaren Schleimhäuten sehr blaß und mit einem grauweißlichen zarten Belag behaftet und sehr dünn war. Der freiliegende Zahnhals hatte eine rauhe, kreideähnliche Beschaffenheit. 8 Arbeiter, von denen 6 bleigeschädigt waren, hatten einen starken foetor ex ore; ich kann diesem Befunde keine Bedeutung zuschreiben.

Alle 7 Bleisaumträger hatten außer dem Saum noch weitere Symptome der Bleivergiftung. Am häufigsten fanden sich noch gran. rote Blutkörperchen und eine Hb-Verminderung. Außerdem klagten 2 Arbeiter über Gelenkschmerzen und chronische Obstipation. Bleisaum als einziges Symptom konnte ich nicht feststellen (vgl. aber K. B. Lehmann (26)).

Auffallend war bei einer großen Zahl bleikranker Arbeiter der starke, gelbliche, samtartige Belag der Zunge.

3 Arbeiter hatten eine diffuse Bronchitis; aktive Tuberkulose wurde nie festgestellt. Bei 1 Arbeiter bestand eine gut kompensierte Mitralinsuffizienz (Folge einer Polyarthritis acuta infect. in der Jugend).

Der Blutdruck wurde aus technischen Gründen nur bei sonstigen deutlichen Bleisymptomen festgestellt; er ergab nichts, was als krankhaft erschienen wäre.

Die Angaben über Beschwerden seitens der Verdauungsorgane waren sehr mannigfacher Art. Es klagten 4 Arbeiter über Appetitmangel, 2 über häufige Übelkeit und Erbrechen, 2 über Schwere in der Magengegend und Druckschmerzhaftigkeit im Epigastrium, 1 über häufiges Aufstoßen, 1 über zeitweise auftretende Magenkrämpfe, 2 über häufigen Durchfall, 5 über chronische Obstipation, 1 über häufige grimmende Leibschmerzen.

Doch dürfen wir aus diesen oft affektbetonten Klagen wohl nicht ohne weiteres Schlüsse für unsere Diagnosestellung einer Bleischädigung ziehen, soweit diese Angaben durch die körperliche Untersuchung nicht eine objektive Begründung erfahren und soweit wir die Beschwerden nicht zwanglos auf andere schädliche Einflüsse der Lebenshaltung zurückführen können (schwere, meistens kalte, lieblos zubereitete Nahrung, lange Pausen zwischen den Mahlzeiten, schlechten Tabak usw.). Von den 19 Arbeitern, die über Magen- und Darmbeschwerden zu klagen hatten, waren 12 auf Grund anderer Symptome als bleikrank zu bezeich-

nen. Doch ist dabei die Frage nicht entschieden, ob die Erkrankung des Verdauungstraktus durch die Bleieinwirkung verursacht wurde oder ob diese Patienten infolge einer angeborenen oder erworbenen Funktionsschwäche des Digestionsapparates und einer dadurch bedingten erhöhten Krankheitsbereitschaft widerstandsloser gegen eine Bleivergiftung waren, die sich dann vorzugsweise an den geschwächten Organen des Verdauungstraktus auswirkte.

Path. Veränderungen an der Leber und der Milz konnten nicht festgestellt werden.

Eiweiß wurde nur einmal in Spuren gefunden; im übrigen ergab die Untersuchung des Urins keine abnormen Befunde.

3 Arbeiter klagten über brennende und stechende Schmerzen in den Gelenken der Hände, der Schulter und der Knie. Der eine von diesen war seit 3 Jahren mit Blei beschäftigt, die beiden anderen erst seit einigen Monaten. Sämtliche waren bleikrank. Irgendwelche Veränderungen an den Gelenken und eine Einschränkung ihrer Funktion waren nicht nachweisbar. Harnsäurebestimmungen konnten nicht durchgeführt werden.

An dem Zentralnervensystem konnten folgende krankhafte Veränderungen festgestellt werden:

Bei 2 Arbeitern mit deutlichen Zeichen einer Bleischädigung bestand ein feinschlägiger Tremor, ähnlich wie bei Morbus Basedowi, ohne sonstige motorischen Reizerscheinungen. 1 ebenfalls bleikranker Mann hatte einen deutlichen Nystagmus horizontalis bei Blickrichtung nach rechts. Außer diesen Erregungssymptomen konnte ich irgendwelche Lähmungserscheinungen der motorischen peripheren Nerven nicht beobachten. Insbesondere sah ich trotz eingehendster Prüfung in keinem Falle eine Streckerschwäche (vgl. Teleky (8)). K. B. Lehmann macht sehr mit Recht darauf aufmerksam, daß wir eine gewisse Ungelenkigkeit, insbesondere der rechten Hand bei Menschen, die eine schwere körperliche Arbeit zu leisten haben oder als Restzustand früherer Verletzungen und Gelenkerkrankungen häufig finden und daß diese Ursachen der Steifigkeit des Handgelenkes bei Massenuntersuchungen vielfach unberücksichtigt bleiben. Psychische Störungen, wie Manien, Depressionen, ferner Herderscheinungen, epileptiforme Erkrankungen fielen mir nicht auf. Ein 33jähriger Arbeiter war imbezill; es ist nicht uninteressant, daß dieser Mann, obwohl er erst seit 10 Monaten mit Blei zu tun hatte, die schwerwiegendsten Anzeichen einer Bleivergiftung aufwies. Es ist eine Gewissenlosigkeit, solche Leute, denen die Erkenntnis für die Gefahren der Bleiarbeit mangelt, in einen Bleibetrieb einzustellen.

Eine besondere Berücksichtigung fand bei den Untersuchungen die Beschaffenheit des roten und weißen Blutbildes. Während heute niemand an der Bedeutung der basophil. granul. Erythroc. als eines wertvollen Hilfsmittels für die Bleidiagnose zweifelt, sind viele Einzelfragen, wie die über ihre Entstehung, die Beziehung der Granula zum Kern usw., noch unbeantwortet. Ich muß mir versagen, auf die interessanten Kontroversen einzugehen, da ich nichts Neues dazu ermittelt habe. Die endgültige Klärung dieser Fragen wird nicht durch symptomatologische Beobachtungen, sondern nur durch sorgfältige, mit allen Hilfsmitteln der modernen hämatologischen Technik ausgeführte histologische Unter-

suchungen, besonders der blutbildenden Organe, möglich sein. Das gleiche gilt auch für das Problem des Wesens und der Herkunft der polychromatischen Zellen.

Das Vorkommen der basophil. granul. Erythrozyten beschränkt sich nicht nur auf die Bleivergiftung. (Auftreten bei Anämien: vgl. Naegeli (9); nach großen Aderlässen: vgl. K. B. Lehmann (2a); Cohn (11); P. Schmidt (12); Blumenthal und Morawitz (13); physiolog. Vorkommen: vgl. Naegeli (9), Trautmann (7), P. Schmidt l. c.

Naegeli betont, daß selbst schon der Genuß von Blutwürsten bei klinisch gesunden Menschen das Auftreten von granul. Erythroc. verursache. In einem 8tägigen Selbstversuch, in dessen Verlauf meine Nahrung fast ausschließlich aus Blutwürsten bestand, konnte ich diese Angabe nicht bestätigt finden. Das Auftreten der basophil. granul. Erythroc. beim klinisch gesunden Menschen scheint noch von besonderen biologischen Bedingungen abhängig zu sein, wie solche auch Naegeli für das Auftreten von getüpfelten Blutkörperchen im Verlaufe einer Anämie annimmt.

Neben den basophil granul. roten Blutkörperchen müssen aber auch — wie W. Koch (1) mit Nachdruck forderte — die polychromatischen Zellen für die Diagnose einer Bleivergiftung mit herangezogen werden. Zwischen grober Körnelung und Polychromasie bestehen alle denkbaren Übergänge, so daß man oft nur sehr schwer oder gar nicht entscheiden kann, ob man die betreffende Zelle zu den punktierten oder zu den polychromatischen rechnen soll. In den von mir untersuchten Blutausstrichen habe ich je die auf 10000 rote Blutkörperchen treffenden basophil punktierten und polychrom. Blutzellen gezählt und getrennt verzeichnet.

Die Blutausstriche wurden am Ort der Untersuchung angefertigt und dann zu Hause weiter verarbeitet. Als Färbemethode wurde sowohl die Methode nach Schmidt (Azur 2-Giemsa) in der Modifikation nach E. W. Koch, wie auch die Toluidinblaumethode nach Litten und Süßmann gewählt. Vergleichende Auszählungen mit den beiden Methoden bestätigten durchwegs die Feststellung K. B. Lehmanns (2a), daß man bei Anwendung der Toluidinblaumethode eine größere Anzahl (ca. 50% mehr) von basophil granul. roten Blutkörperchen erkennen könne als bei der Azur 2-Giemsa-Färbung. Es wäre sehr zu begrüßen, wenn nach dem Vorschlage Kochs eine Methode ein für allemal als Standartmethode festgelegt würde; ich würde aber nach den oben dargelegten Ergebnissen die Toluidinblaumethode empfehlen.

Ein schematisches Festhalten an einer Grenzzahl als Indikator einer sicheren Bleieinwirkung muß unbedingt vermieden werden. Das Auftreten der atypischen roten Blutkörperchen ist, wie jede Blutreaktion, zu sehr von individuellen Momenten abhängig und außerdem wissen wir ja doch bei den meisten unserer Patienten nichts über die individuelle Reaktionsweise der blutbildenden Organe vor Einsetzen einer bestimmten Schädlichkeit, z. B. des Bleies. Somit muß neben dem Vorhandensein der granul. und der polychrom. Erythrocyt. immer auch das Gesamtbild des Gesundheitszustandes unsere diagnostischen Überlegungen bestimmen. Wir werden z. B. das Auftreten von getüpfelten roten Blut-

körperchen bei gleichzeitig bestehender Anämie viel weniger als Bleisymptom zu deuten geneigt sein, als das Auftreten einer sogar viel geringeren Menge von granul. Erythroc. bei einem klinisch gesunden oder klinisch bleiverdächtigen Menschen. Vor allem sei darauf hingewiesen, daß wir nur über dem Niveau des Grenzwertes liegende Zahlen von granul. und polychromat. Zellen sicher diagnostisch verwenden dürfen. Mengen unter der Grenzzahl erlauben nur sehr bedingt, d. h. bei genauer Berücksichtigung des allgemeinen Gesundheitszustandes eine diagnostische Deutung.

Als Zeichen einer sicheren Bleischädigung nahm ich — unter den oben genannten Voraussetzungen — an:

Werte der granul. Erythrozyten allein von 500:1 Million,
Werte der Granulopolychromaten von 600:1 Million.

Als ein für Bleieinwirkung verdächtiges Zeichen galten Werte der Granulopolychromaten von 300—500:1 Million.

Was die absoluten Zahlen der basophil granul. Erythrozyten betrifft, so fand ich die Angabe Naegelis, daß ein massenhaftes Vorkommen sehr selten sei, vollauf bestätigt.

Bei insgesamt 69 von den 86 Arbeitern wurde eine Polychromasie festgestellt. Von diesen 69 Leuten waren 58 gleichzeitig Granulaträger, während in 11 Fällen nur polychromatische Zellen gefunden wurden. Allerdings war die Anzahl der polychrom. Zellen bei diesen 11 Fällen sehr gering. Sie betrug

bei 7 Untersuchten 100:1 Million Erythrozyten,
„ 1 „ 200:1 „ „
„ 3 „ 300:1 „ „

Die zuletzt erwähnten 3 Arbeiter, die alle ungefähr 1 Jahr im Bleibetrieb tätig waren, waren auf Grund anderer Symptome als sicher bleikrank anzusehen. Das Vorkommen von basophil getüpfelten roten Blutkörperchen ohne polychromat. Zellen konnte ich 6mal beobachten.

2 von diesen 6 Arbeitern waren sicher bleikrank (700—800 granul. Erythroc. auf 1 Million Blutkörperchen, ferner Verdauungsbeschwerden und Bleikolorit).

Das Zahlenverhältnis zwischen den basophil granul. (g. E.) und den polychromatischen (Po) roten Blutkörperchen betrug (vgl. Naegeli (9))

in 25 klinisch gesunden Fällen, bei denen die Anzahl der g. E. den Grenzwert 500:1 Million nicht erreichte . . . . Po:g. E. = 1,0:1,0,

in 6 als bleikrank befundenen Fällen, bei denen die Anzahl der g. E. den Grenzwert 500:1 Million nicht erreichte . . . . Po:g. E. = 1,0:1,37,

in 5 Fällen, bei denen die Anzahl der g. E. sich auf 500:1 Million belief . . . . Po:g. E. = 1,0:2,58,

in 10 Fällen, bei denen die Anzahl der g. E. zwischen 500 und 1000:1 Million schwankte . . Po:g. E. = 1,0:1,54,

in 14 Fällen, bei denen die Anzahl der g. E. mehr als 1000:1 Million betrug . . . . Po:g. E. = 1,0:1,81.

K. B. Lehmann (2b) fand, daß die granulafreien Arbeiter sehr erheblich freier von anderen Fehlern seien als die Granulaträger. Ich konnte diese Angaben, die Lehmann an einem viel umfassenderen Material gewonnen hat, bei meinen Untersuchungen nicht bestätigt finden. Denn unter meinen 86 Arbeitern befanden sich 9, die zwar keine oder nur 100 bis 200 g. E.: 1 Million Blutkörperchen aufwiesen, die aber sonstige unzweifelhafte Anzeichen einer Bleivergiftung hatten. Diese Bleisymptome waren weder zahlenmäßig geringer, noch waren sie, was wohl die Hauptsache ist, weniger schwerwiegend als bei den Granulaträgern. Andererseits konnten bei 12 Granulaträgern, bei denen die Zahl der g. E. 500—2000: 1 Million betrug, keinerlei krankhaften körperlichen Befunde erhoben werden, die den Verdacht einer Bleischädigung rechtfertigen konnten.

Von 18 sicher bleigeschädigten Granulaträgern hatten 9 ein sehr blasses Aussehen, 7 eine Hb-Verminderung auf 70%, 7 Verdauungsbeschwerden, 6 kariöse Zähne, 4 Bleisaum, 4 Foetor ex ore, 4 Appetitmangel, 2 chronische Obstipation, 2 Gelenkschmerzen, 2 eine auffallende Heterochromie der Iris, 1 Nystagmus, 1 geringe Albuminurie. Setzen wir das Auftreten der g. E. in Beziehung zu den Dienstjahren im Bleibetrieb (vgl. K. B. Lehmann (2b)), so erhalten wir folgendes Bild:

1. Von 20 Arbeitern, welche ½ Jahr im Bleibetrieb standen, waren nur 7 = 35% Granulaträger, und zwar hatten diese alle mit Ausnahme von 1 Untersuchten (6300 g. E.: 1 Million) relativ niedrige Werte von g. E. (500—1000: 1 Million).
2. Von 41 Arbeitern, welche ½—2 Jahre mit Blei arbeiteten, hatten 17 = 41,46% Granula, und zwar 10 Untersuchte 500—1000: 1 Million, 4 Untersuchte 2000: 1 Million, 3 Untersuchte 3000: 1 Million.
3. Von 25 Arbeitern, welche 2—10 Jahre im Bleigewerbe tätig waren, hatten 7 = 28% g. E., und zwar 2 Untersuchte 500: 1 Million, 3 Untersuchte 1400—2000: 1 Million, 1 Untersuchter 3400: 1 Million, 1 Untersuchter 6600: 1 Million.

K. B. Lehmann (2b) fand ferner eine Zunahme der Granulaträger mit der Zunahme der Altersklassen, aber ohne richtige Gesetzmäßigkeit. Unter den von mir untersuchten 86 Arbeitern waren

von	40	Leuten im Alter von	18—29	Jahren	13 = 32,5% Granulaträger,
„	27	„ „ „ „	30—39	„	13 = 48,14% „
„	12	„ „ „ „	40—49	„	3 = 25,00% „
„	4	„ „ „ „	50—59	„	2 = 50,00% „
„	3	„ „ „ „	60—69	„	0 = 0 % „

Aus den beiden vorstehenden Zusammenstellungen kann ein gesetzmäßiges Verhalten im Auftreten der g. E. nicht abgeleitet werden, sie scheinen im Gegenteil vielmehr darzulegen, daß derartige statistische Betrachtungen nicht geeignet sind, uns über das Zustandekommen, die Häufigkeit des Auftretens und über das Zahlenverhältnis der g. E. wesentlichen Aufschluß zu geben. Das Auftreten der atypischen roten Blutkörperchen braucht — wie auch eine Leukozytose — weder zeitlich noch quantitativ mit der Einwirkung eines schädigenden Giftes parallel zu gehen.

Die Frage, ob zwischen dem Auftreten und der Zahl der g. E. einerseits und der Schwere der Erkrankung andererseits parallele Beziehungen bestehen, möchte ich in Übereinstimmung mit Strauß und Rohnstein (5) verneinen; denn eine mehr oder weniger hohe Anzahl von g. E. bei einem Bleikranken kann uns ebensowenig ein Maßstab für die Schwere dieser Erkrankung sein, wie z. B. der Grad einer Leukozytose im Verlaufe einer Sepsis. Wir kommen somit zu der Frage, welcher diagnostische Wert den g. E. überhaupt zuzusprechen sei. Die Tatsache, daß auch bei anderen Erkrankungen (Anämien, Malaria, Carzinom) gelegentlich g. E. auftreten können, ferner die Beeinflussung der Menge der punktierten Blutkörperchen durch eine gleichzeitige hochgradige Anämie, die wahrscheinliche Abhängigkeit ihres Auftretens von der individuell schwankenden Reaktionskraft der blutbildenden Organe, das von mehreren Forschern, insbesondere von K. B. Lehmann und seiner Schule, beobachtete periodische Schwanken in der Zahl der g. E., besonders aber das vollständige Fehlen der getüpfelten roten Blutzellen bei klinisch sicher bleikranken Menschen, muß uns doch sehr zu denken geben. Ein negativer Befund ist ebenso nichtssagend als das Fehlen von Roseolen bei einem Typhus; ein positiver Befund ist aber nur bei Ausschlußmöglichkeit der erwähnten anderen Erkrankungen diagnostisch, niemals aber prognostisch zu verwerten.

Meine Bemühungen, sonstige Veränderungen an den roten Blutkörperchen zu finden, ergaben wenig; ganz vereinzelt wurden orthochromatische Makrozyten, etwas öfters Mikrozyten, nie dagegen Schizozyten, Cabotsche Ringe und kernhaltige Blutkörperchen beobachtet.

Das weiße Blutbild konnte von mir in 52 Fällen einer eingehenden Untersuchung unterzogen werden. Die Blutausstriche wurden nach Pappenheim (May-Grünwald-Giemsa) gefärbt.

Bei der Untersuchung der Blutpräparate wurde nicht nur das prozentuale Verhältnis der einzelnen Blutzellenarten festgestellt, sondern auf alle auffallenden morphologischen Eigentümlichkeiten geachtet, die uns einen Anhaltspunkt über das Alter der Zelle, sowie über regenerative und degenerative Prozesse in der Zelle zu geben imstande sind.

Was die polymorphkernigen neutrophilen Leukozyten betrifft, so wurden sie zunächst in 2 Unterklassen eingeteilt:

1. In solche, deren Kern stab-S-förmig war, und zwar:
   a) in wirklich junge Zellen mit breitem, heller strukt. Kern,
   b) in alte Zellen, mit schmalerem, mehr dunklem, pyknot. Kern,
2. in solche, deren Kern 2 und mehr Segmente aufwies.

Eine eingehendere Differenzierung der neutrophilen Leukozyten bezüglich ihrer Kernzahl nach dem Arnethschen Schema wurde nicht durchgeführt. Es wurden nur die mehr als 5lappigen Kerne gesondert verzeichnet. Es ist hier nicht der Platz, auf das Für und Wider, das gegen das Arnethsche Hämogramm, die Bedeutung der Kernverschiebung und die Konstanz der Arten erhoben wurde, näher einzugehen. Dagegen wurden die polymorphkernigen neutrophil. Leukozyten nach der inneren Struktur des Kernes noch in folgende 6 Unterklassen eingeteilt, und zwar in Zellen

1. mit deutlich altem oder jungem Kern,
2. mit geringer bis fehlender Granulation,
3. mit metachromatischer Granulation,
4. mit Vakuolen,
5. mit Nukleolen,
6. chromatinarme, kleine, plumpe Zellen.

Die polymorphkernigen, eosinophilen Zellen wurden mit Rücksicht auf die geringen absoluten und relativen Zahlen dieser Zellart nicht weiter eingeteilt.

Die basophilen Leukozyten (Mastzellen) wurden unterschieden in
1. kleinere Formen,
2. große Formen und letztere wieder gesondert
   a) in Zellen mit rundem Kern,
   b) in Zellen mit segmentiertem Kern.

Die Lymphozyten wurden in 2 Unterklassen eingeteilt
A. in kleine Zellen mit engem Protoplasmasaum,
B. in große Formen mit breitem Protoplasmaring.

In jeder dieser beiden Gruppen wurde wieder unterschieden zwischen runden, wenig gebuchteten und stark gebuchteten Formen und auf die innere Struktur des Kernes geachtet. Außerdem wurden die Plasmazellen gesondert verzeichnet und nach dem Vorschlage Naegelis (9) in lymphoplastische, in lymphozytäre und Radkernformen eingeteilt.

Die großen mononukleären Zellen und die Übergangszellen wurden ebenfalls nach dem Naegelischen Schema differenziert in
1. jugendliche Zellen mit feinem Chromatinnetz,
   a) Zellen mit geringer Kernpolymorphie,
   b) Zellen mit gebuchtetem, gelapptem, halbmondförmigem Kern;
2. altkernige Zellen mit groben Chromatinnetz,
   a) mit geringer Kernpolymorphie,
   b) mit starker Lappung bis völliger Segmentierung.

Mit dieser Aufstellung obigen Blutschemas, das in keiner Weise gegen die von anderer Seite und zu anderen Zwecken aufgestellten Hämogramme Stellung nehmen will, kam es mir lediglich darauf an, alle wesentlichen Eigentümlichkeiten der verschiedenen Blutzellenarten zu erfassen und so einen Überblick über den morphologischen Ausdruck der Blutreaktion zu gewinnen.

Was die prozentuale Verteilung der einzelnen Leukozytenarten betrifft, so ergab eine Zusammenstellung meiner 40 Fälle, bei denen auf Grund der Veränderungen des roten Blutbildes und sonstiger körperlicher Symptome eine Bleieinwirkung sicher oder doch sehr wahrscheinlich war (cf. Tabelle), Zahlenwerte

1. der polymorphkernigen neutrophilen Leukozyten

	unter 60,5%	in 38 = 95,0%	der Fälle,	
	„ 50,5%	in 31 = 77,5%	„	„
	„ 40,5%	in 15 = 37,5%	„	„
	„ 30,5%	in 6 = 15,0%	„	„

2. der Lymphozyten

	über 30,5%	in 36 = 90,0%	„	„
	„ 35,0%	in 32 = 80,0%	„	„
und zwar	35,5—40,0%	in 6 = 15,0%	„	„
	40,5—50,0%	in 19 = 47,5%	„	„
	50,5—60,0%	in 7 = 17,5%	„	„

3. der großen mononukleären Zellen

	über 4,5%	in 36 = 90,0%	„	„
	„ 5,5%	in 28 = 70,0%	„	„
	„ 8,0%	in 19 = 47,5%	„	„
und zwar	5,5—10,0%	in 13 = 32,5%	„	„
	10,0—15,0%	in 9 = 22,5%	„	„
	15,5—20,0%	in 4 = 10,0%	„	„
	20,5—23,0%	in 2 = 5,0%	„	„

Zu einer eingehenderen Betrachtung der prozentualen Verschiebung der Leukozytenarten wurden die obigen 40 Fälle noch nach folgenden Gesichtspunkten in 5 Gruppen geordnet:

Gruppe 1 (cf. Tabelle) enthält die Fälle mit starker Vermehrung der g. E. und der Po bei gleichzeitig bestehenden bleiverdächtigen körperlichen Symptomen,

Gruppe 2 (cf. Tabelle) enthält die Fälle mit geringer Vermehrung der g. E. und der Po bei gleichzeitig bestehenden bleiverdächtigen körperlichen Symptomen,

Gruppe 3 (cf. Tabelle) enthält die Fälle ohne Vermehrung der g. E. und der Po bei gleichzeitig bestehenden bleiverdächtigen körperlichen Symptomen,

Gruppe 4 (cf. Tabelle) enthält die Fälle mit Vermehrung der g. E. und der Po ohne andere bleiverdächtige körperliche Symptome,

Gruppe 5 (cf. Tabelle) enthält die Fälle, bei denen die Zahl der g. E. und Po den Grenzwert erreichte und gleichzeitig bleiverdächtige körperliche Symptome bestanden.

Tabelle.

Prozentverhältnisse der Leukozyten bei Arbeitern mit sicheren Bleisymptomen oder auf Bleischädigung verdächtigen Symptomen.

	Nr.	Alter	Dienstjahre	Beschäftigung	Neutrophile polym.	Lymphozyten A klein	Lymphozyten B groß	Lymphozyten gesamt	Mononukl. Leukozyten	Eosinophyle Leukozyten	Mastzellen	Plasmazellen
Gruppe I	64	23	$^1/_2$	Schmelzer	59	15	17	32	5	4	0	0
	35	43	$^1/_2$	Hofarbeiter	28	8	40	48	15	9	0	0
	29	26	3	Schmelzer	39	19	27	46	9	5	1	0
	53	31	1	,,	52	8	32	40	6	2	0	0
	42	32	$2^1/_2$	Schmied	33	28	27	55	10	2	0	0
	81	37	1	Schachtofen	46	16	20	36	9	8	0	1
	24	42	$3^1/_4$	Schmelzer	58	14	15	29	8	3	1	1
	46	45	$^1/_2$	,,	45	16	29	45	6	3	1	0
	79	30	$^1/_2$	Schachtofen	44	21	24	45	11	0	0	0
								41,77				
Gruppe II	36	26	$^1/_5$	Hofarbeiter	29	14	36	50	19	2	0	0
	27	49	1	Schmelzer	49	13	25	38	10	2	0	1
	28	33	3	,,	38	8	38	40	12	1	0	3
	26	56	$3^1/_2$	Laborant	48	20	16	36	11	5	0	0
	54	27	$1^1/_2$	Schmelzer	48	16	25	41	5	6	0	0
	23	25	$2^1/_2$	,,	46	16	31	47	5	1	0	1
	22	35	$2^1/_2$	,,	34	20	34	54	9	1	2	0
	51	35	1	,,	43	8	36	44	3	0	0	0
								44,5				

Tabelle (Fortsetzung).

	Nr.	Alter	Dienstjahre	Beschäftigung	Neutrophile polym.	Lymphozyten A klein	Lymphozyten B groß	Lymphozyten gesamt	Mononukl. Leukozyten	Eosinophyle Leukozyten	Mastzellen	Plasmazellen
Gruppe III	52	26	$^1/_4$	Schmelzer	28	10	37	47	23	0	1	1
	66	60	11	Bürodiener	44	27	15	42	7	7	0	0
	13	27	$1^1/_4$	Schmelzer	52	21	22	43	5	0	0	0
	31	58	3	Aufseher	39	6	42	48	8	1	1	3
	5	33	3	Schmelzer	43	24	24	48	4	5	0	0
	8	28	1	,,	41	19	30	49	5	3	0	2
	19	36	1	Schmied	39	18	27	45	11	2	0	3
	15	34	1	Schmelzer	28	9	43	52	15	1	0	4
	18	47	$^1/_4$	Schlosser	50	19	13	32	13	4	1	0
	17	36	$^1/_4$	Schachtofen	28	10	49	59	5	1	2	5
	82	46	$^1/_4$	Schmelzer	58	8	15	23	16	2	0	1
	85	24	1	,,	48	10	33	43	7	1	0	1
	9	34	1	,,	38	25	29	54	7	1	0	0
	76	30	$^3/_4$	,,	48	7	30	37	5	6	1	3
	38	26	$^1/_2$	Hofarbeiter	54	14	20	34	4	8	0	0
	55	27	$^1/_2$	Schlosser	36	13	30	43	18	1	1	1
								46,18				
Gruppe IV	67	26	1	Schachtofen	45	12	19	31	23	1	0	0
	57	35	2	Schreiner	57	24	11	35	3	5	0	0
	56	26	1	Schmelzer	77	14	8	22	1	0	0	0
	60	23	1	,,	62	17	12	29	5	3	1	0
								29,25				
Gruppe V	48	29	1	Schmelzer	45	9	33	42	6	5	1	1
	44	25	$^3/_4$	,,	31	10	45	55	12	2	0	0
	39	60	$^1/_3$	Hofarbeiter	24	6	49	55	20	1	0	0
								50,6				
Gruppe VI A	3	42	1	Meister	63	20	13	33	2	2	0	0
	10	20	3	Schmelzer	53	17	21	38	4	4	1	0
	14	50	$^1/_2$	Magazin	68	19	10	29	1	1	1	0
	50	47	3	Heizer	57	22	15	37	2	2	2	0
	65	32	$^3/_4$	Wiegemeister	69	11	15	26	2	3	1	0
	68	24	$^3/_4$	Fuhrknecht	40	30	24	54	4	2	0	0
	72	21	$3^1/_4$	Schmelzer	56	28	11	39	3	1	1	0
	33	19	7 Mt.	Hofarbeiter	61	15	19	34	2	3	0	0
								36,25				
Gruppe VI B	7	40	2	Schmelzer	54	20	19	39	6	1	0	0
	11	36	$1^1/_2$	Hofarbeiter	36	24	29	53	10	0	1	0
	16	29	1	Schmelzer	44	19	24	43	9	3	1	0
	62	36	1	Gießer	20	26	34	60	18	1	0	1
	69	22	$^3/_4$	Schmelzer	41	25	20	45	12	2	0	0
	78	27	4 Mt.	,,	56	20	14	34	7	2	0	1
								45,66				

Meine Untersuchungen über das Verhalten des weißen Blutbildes in den obigen 5 Gruppen, auf deren ausführliche tabellarische Mitteilung ich verzichten muß, ergaben folgendes:

Die neutrophilen polymorphkernigen Leukozyten zeigten in all den vorstehenden Gruppen keine Besonderheiten. Allenthalben

konnten neben den Anzeichen einer gesteigerten Regeneration (stab- und S-förmige Kernformen, Basophilie des Protoplasmas, metachromatische Granulation) auch auf degenerative Prozesse hindeutende Formen (alte pyknotische Kernformen unter den stab- und S-förmigen, geringe bis fehlende Granulation, Vakuolenbildung) beobachtet werden.

Unter den Lymphozyten waren mit wenig Ausnahmen die großen Zellformen (B) mit breitem Protoplasmasaum vorwiegend; unter 40 Fällen 33mal. Die Trennung in große und kleine Formen, deren Bedeutung vielfach und wohl mit Recht angezweifelt wird, ist wegen der Übergänge oft sehr schwer und unsicher. Die innere Kernstruktur der Lymphozyten war sehr wechselvoll (grobbalkig, dunkel gefärbt — öfters zart, mit hellerem Chromatingerüst) und stand in keinem gesetzmäßigen Verhältnis zur äußeren Form der Zellen und zur Höhe der Lymphozytose. Exzentrisch gelegene Kerne wurden häufig beobachtet. Die Einschnitte der Lymphozyten bestanden in den meisten Fällen nur in seichten Einbuchtungen.

Die Plasmazellen (mit deutlicher Basophilie des Protoplasmas) waren vorwiegend lymphozytärer Struktur, nur in 2 Fällen konnten ausgesprochene Radkernformen beobachtet werden.

Unter den großen mononukleären Zellen wurden alle Stadien des Alters und der Kernpolymorphie gefunden, wenn auch die Mehrzahl die Merkmale jugendlicher Zellen aufwies.

Den eosinophilen Zellen, die in manchen Fällen in recht beträchtlicher Menge auftraten, glaube ich in diesem Zusammenhange keine besondere Bedeutung zuschreiben zu dürfen, da ich nicht in der Lage war, bei den Arbeitern Untersuchungen des Stuhles vorzunehmen und so eine Helminthiasis nicht ausschließen konnte.

Zahlenmäßige Beziehungen zwischen dem prozentualen Anteil der einzelnen Leukozytenarten an dem weißen Blutbild einerseits, dem Lebensalter der Patienten und der Dauer der Dienstzeit im Bleibetrieb andererseits konnten nicht ermittelt werden. Ebenso ließ sich eine Wechselbeziehung zwischen dem Verhalten des roten und weißen Blutbildes nicht feststellen. So geht das Auftreten der großen mononukleären Zellen keineswegs parallel mit dem der Granulopolychromaten.

Von besonderem Interesse scheint mir die Vermehrung der Lymphozyten und die hochnormalen und patholog. erhöhten Werte der mononukleären Zellen bei den meisten derjenigen Patienten zu sein, welche irgendwelche klinisch verdächtige Bleisymptome boten (vgl. Gruppe 1 u. 2), selbst bei fehlenden oder doch innerhalb der physiologischen Grenzen schwankenden Granulopolychromaten (vgl. Gruppe 3 und 5). Die Gruppe 4, welche frei von klinischen Verdachtsmomenten war, zeigte bezüglich der Lymphozyten annähernd normale Verhältnisse; dabei sind allerdings in 1 Falle auffallend zahlreiche große mononukleäre Zellen, 23%, vorhanden.

Der häufige Befund einer Lymphozytose bedarf noch einer kurzen kritischen Betrachtung. Wenn man auch heute geneigt ist, eine größere Schwankungsbreite im Prozentsatz der Lymphozyten noch als physiologisch anzuerkennen und demzufolge einer geringen Vermehrung der Lymphozyten, besonders bei jugendlichen Menschen, nicht mehr in dem Maße wie früher eine pathologische Bedeutung beizumessen, so übersteigt doch die Prozentzahl der Lymphozyten bei meinen bleigeschädigten Arbeitern in 80% der Fälle den Wert, den wir auf

Grund unserer heutigen klinischen Erfahrung als oberste Norm bei jugendlichen männlichen Erwachsenen anzusehen pflegen (35,5%). Störungen des vegetativen Nervensystems (z. B. Morbus Basedowi), funktionell nervöse Störungen (z. B. Neurasthenie), die häufig von einer Lymphozytose begleitet sind, fielen mir nicht auf. Die Kriegslymphozytose, die wohl durch eine Addierung alimentärer Faktoren (einseitige KOH-Nahrung, Eiweiß- und Fettmangel) zu funktionell nervösen Faktoren, zum Teil auch durch infektiöse Prozesse hervorgerufen wurde, kommt heute, wie auch H. Hirschfeld (15) annimmt, nicht mehr in Betracht. Dagegen mag in einigen meiner Fälle die Lymphozytose postinfektiöser Natur sein. Früher überstandene, anamnestisch bekundete Infektionskrankheiten, die sich bei der Untersuchung der Arbeiter in keiner Weise mehr klinisch offenbarten, lagen mit Ausnahme von 5 Fällen (viermal Grippe, einmal Dickdarmentzündung vor 3—4 Monaten) mehr als 6 Monate zurück und dürften alle nach klinischer Erfahrung keine lymphatische Reaktion mehr bedingt haben. Dagegen konnte ich keine Röntgendurchleuchtung (latenter Infektionsherd) und keine WaR (Lues) durchführen; eine venerische Infektion und eine antiluetische Kur wurden zwar mit Ausnahme von einem Arbeiter (ohne Lymphozytose) verneint, doch möchte ich diesen Angaben nicht zu viel Glauben schenken.

Trotz dieser Einschränkung möchte ich auf Grund meiner Befunde, die an einem größeren klinischen Material nachzuprüfen sind, die Vermutung aussprechen, daß die Vermehrung der Lymphozyten und der großen mononukleären Zellen einen brauchbaren Indikator für eine Bleischädigung des Organismus darstellt. Für diese Annahme spricht auch das Ergebnis folgender Zusammenstellung: von 14 klinisch vollkommen gesunden Arbeitern, die nicht anamnestisch belastet waren und bei denen keinerlei auf Bleischädigung verdächtige körperliche Symptome und Veränderungen des roten Blutbildes gefunden werden konnten, hatten nur 8 ein normales Verhalten der großen mononukleären Zellen; aber auch bei diesen war mit Ausnahme von 4 eine mehr oder weniger deutliche Lymphozytose vorhanden (vgl. Gruppe 6A). Die übrigen 6 Arbeiter (vgl. Gruppe VI B) wiesen jedoch eine Veränderung des weißen Blutbildes auf, die sich weitgehend mit der deckt, die wir oben bei Bleikranken kennengelernt haben: Lymphozytose, hochnormale und patholog. gesteigerte Werte der großen mononukleären Zellen. Möglicherweise stellen in diesen letztgenannten 6 Fällen gerade die Veränderungen des weißen Blutbildes die erste Reaktionsweise des Körpers auf die Bleieinwirkung dar.

Zusammenfassung. Jedes der typischen Bleisymptome kann vorhanden sein, aber auch fehlen. Die Art und die Zahl der bei einem Bleikranken auftretenden Symptome, ihre Häufigkeit und die Intensität der Krankheitsäußerungen scheinen in weitgehendem Maße von konstitutionellen Momenten, früher überstandenen Krankheiten, Lebensweise und Umweltsverhältnissen abhängig zu sein. Die Bleikrankheit verläuft ebensowenig wie jede andere Krankheit in einer starren Gebundenheit, so daß wir sie durch eine schematisierende Untersuchungsweise nicht erfassen können. Daraus ergibt sich die Forderung, daß wir bei der Untersuchung von Bleiarbeitern nicht, wie vielfach üblich, nur auf die Kardinalsymptome einer Bleivergiftung achten, sondern durch Erheben einer ausführlichen Anamnese, körperliche Untersuchung, Untersuchung des Urins, des roten und des weißen Blutbildes den allgemeinen Gesundheitszustand und die Bedingungen seiner krankhaften Verände-

rungen festzustellen versuchen müssen. Nur auf diese Weise wird es möglich sein, einen Krankheitsprozeß in richtige Beziehung zur Bleiarbeit zu bringen, neue Erkenntnisse über das Wesen und die Entstehungsbedingungen der Bleivergiftung zu gewinnen und rechtzeitig mit unseren Verhütungs- und Heilmaßnahmen einzugreifen.

Literaturverzeichnis.

1. W. Koch, Arch. f. Hyg. Bd. 94, S. 306, 1924,
2. K. B. Lehmann, a) Arch. f. Hyg. Bd. 94; b) Schriften aus dem Gesamtgebiet der Gewerbehyg. Neue Folge. Heft 11. Berlin, Springer 1925.
3. Oliver, a) Lanzet, März 1891; b) Lanzet, Bd. 203, Nr. 18, 1922.
4. P. Schmidt, a) Exp. Beiträge z. Path. d. Blutes. Jena, Fischer 1902; b) Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 72, S. 497, 1907.
5. Strauß und Rohnstein, St. Petersburger med. W. Nr. 26, 1901.
6. Süßmann, vgl. Lehmann unter 2b.
7. Trautmann, M. med. W. Nr. 27, 1909.
8. Teleky, a) M. med. W. 1924, S. 266; b) Ztschr. f. Gewerbehyg. Jahrg. 4, Heft 4—5, S. 105.
9. Naegeli, Blutkrankheiten und Blutdiagnostik.
10. Claisse und Dupré, Presse medical 1897, Nr. 105.
11. Cohn, M. med. W. 1900, Nr. 6.
12. P. Schmidt, M. med. W. 1903, Nr. 13.
13. Blumenthal und Morawitz, D. Arch. 92, 1907.
14. Grawitz, Klinische Pathologie des Blutes.
15. H. Hirschfeld, in Handbuch der Krankheiten des Blutes usw., herausg. von Schittenhelm. Berlin, Springer 1925.

Experimentelle Studien über die gleichzeitige Wirkung von Arbeit und Giftgasen auf den Organismus.

Von

Dr. **W. Lütkens** aus Moskau.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Würzburg. Direktor: Geheimer Rat Prof. Dr. K. B. Lehmann.)

(Bei der Redaktion eingegangen am 17. Dezember 1926.)

I. Einleitung.

Aufgabe und Methodik der Arbeitsversuche.

Als ich im Frühling des Jahres 1925 Herrn Geheimrat Prof. Dr. K. B. Lehmann bat, in seinem Institut eine Untersuchung ausführen zu dürfen, schlug er mir vor, eine neue, bisher noch kaum behandelte Frage in Angriff zu nehmen, nämlich: Die gleichzeitige Wirkung von Arbeit und Giftgasen. Während die bisherigen Versuche des Würzburger Instituts alle an ruhenden Tieren vorgenommen sind, wobei die Tiere ihr ganzes Verhalten so einrichten konnten, wie es ihnen zweckmäßig schien, sollte jetzt ein Teil der zu untersuchenden Tiere zur Arbeit gezwungen werden, während Kontrolltiere sich ruhig verhielten. Es war zu erwarten, daß die arbeitenden Tiere verstärkte Atmung zeigen und dadurch verstärkte Schädigung durch die giftigen Gase erleiden würden.

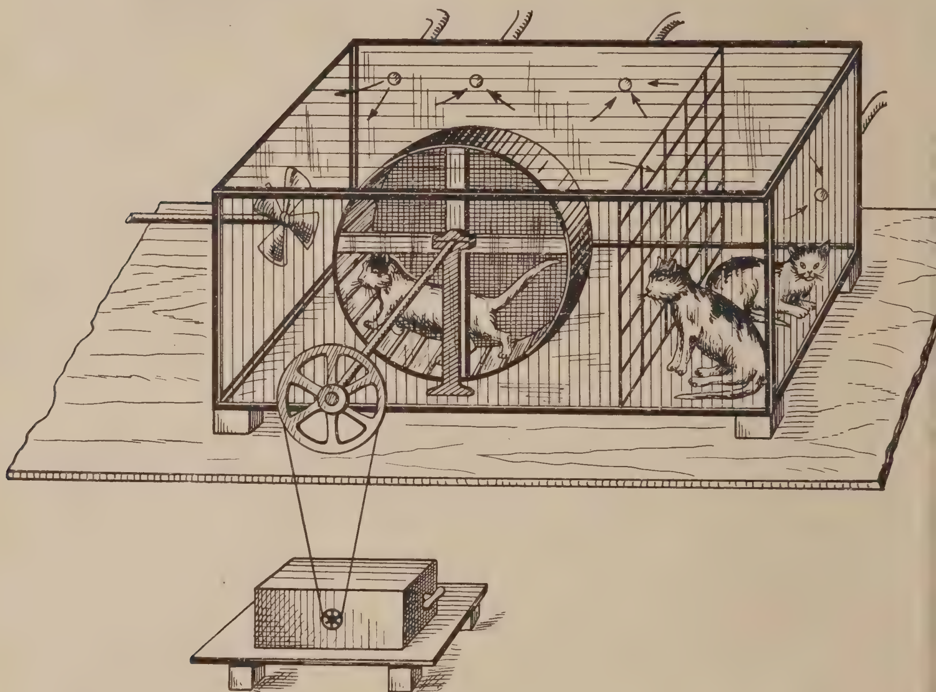
Diese Fragestellung interessierte mich in hohem Grade, und ich habe mir große Mühe gegeben, die vielen und zum Teil unvorhergesehenen Schwierigkeiten, die sich mit der technischen Durchführung des obigen Programms ergaben, zu überwinden. Die Erfahrungen des Würzburger Instituts und die persönliche Beratung durch Herrn Geheimrat Lehmann und Herrn Assistent Dr. Ludwig Schmidt-Kehl, erleichterten mir meine Arbeit sehr. Es ist mir ein Bedürfnis, den beiden Herren von ganzem Herzen zu danken für die freundliche Aufnahme in Würzburg.

Die Versuche sind mit dem von Herrn Prof. Lehmann modifizierten Voitschen Respirationsapparat vorgenommen. Es gelingt mit dem Apparat, den Gasgehalt recht konstant zu halten. Ich habe mich davon

Die Arbeit ist russisch in „Hygiena Truda“ 1925, Heft XII ausführlich erschienen, die deutsche Darstellung bringt nur die wesentlichen Resultate und das Methodologische. Eine vorläufige Mitteilung machte Herr Prof. Lehmann auf dem internationalen Kongreß für Gewerbehygiene in Amsterdam, September 1925.

überzeugt, indem ich stets eine Reihe von Bestimmungen in kürzeren Abständen ausführte und vielfach daneben auch eine Durchschnittsanalyse machte, wozu ich während der ganzen Versuchszeit ständig eine Luftprobe durch das Absorptionsgefäß leitete.

Für meinen speziellen Arbeitszweck mußte der große aus Glas und Eisen gebaute Respirationskasten durch eine Drahtnetzwand in eine größere und eine kleinere Abteilung zerlegt werden. In der kleinen Abteilung befanden sich die Kontrollkatzen, die sich nach Wunsch verhalten konnten. In der großen Abteilung war ein Tretrad eingebaut.



Das endgültige Tretrad hatte folgende Form: Es stellte einen Zylinder von 46 cm Durchmesser und nur 21 cm Höhe dar. Die eine Grundfläche sowie die Mantelfläche bestanden aus Blech, die andere Grundfläche aus Glas. Die Glasscheibe war mit großen Löchern versehen, um der Luft ungehinderten Zugang ins Innere des Tretrades zu gewähren; die Glasscheibe wurde durch ein festes Metallkreuz verstärkt. Die Achse lief wagrecht, war aber im Innern der Trommel weggelassen, weil sie hier die Bewegung der Tiere gehindert hätte. Sie setzte also auf beiden Seiten der Trommel in der Mitte der Grundfläche an und durchbohrte die Wände der Respirationskammer senkrecht.

Die Trommelachse ruhte auf einem festen Holzgestell in der Respirationskammer. Die Rotation sollte durch ein Uhrwerk hervorgebracht werden, das an der Achse angriff, doch war die Leistung desselben etwas

zu schwach, so daß meist die Rotation der Trommel und damit der Katze von Hand gemacht wurde. Die Peripherie des Laufrades war innen mit kleinen abgerundeten Holzleisten versehen, um dem Tier das Gehen zu erleichtern. Die Katzen liefen gewöhnlich recht ordentlich, solange man sie nicht überanstrengte. In diesem Falle suchten sie sich festzuklemmen und sich von der Trommel passiv bewegen zu lassen. In der Kammer ging immer ein Elektro-Ventilator, um die Luft gleichmäßig zu mischen. Harn konnte abfließen durch Löcher im Fußboden und sich in angeschlossenen kleinen Flaschen sammeln.

Die Ventilation des Kastens wurde in bewährter Weise durch eine Gasuhr besorgt, welche durch ein Schaufelrad mittels eines vollkommen gleichmäßigen Wasserstroms bewegt wurde. Der Luftwechsel im Kasten betrug etwa 5 mal pro Stunde. Die Versuche wurden morgens begonnen, die Tiere bekamen vorher kein Futter, die Versuchsdauer war gewöhnlich 3 Stunden. Stets waren ein arbeitendes und zwei nichtarbeitende Tiere gleichzeitig im Versuch. Wichtig war es, die Tiere, die zu den Arbeitsversuchen dienen sollten, etwas an ihre Aufgabe zu gewöhnen, indem man sie zuerst ohne Giftgas an einigen Tagen „arbeiten" ließ.

Wer meine Versuche nachmachen will, wird sich überzeugen, daß die theoretisch ganz einfache Anordnung doch mancherlei praktische Schwierigkeiten macht. Ich habe in den Monaten Februar, März und April 1925 52 Versuche durchgeführt, von denen ich 31 als Vorversuche, 21 als vollgelungene Hauptversuche bezeichnen kann, und zwar 15 mit Salzsäure und 6 mit Tetrachlorkohlenstoff.

Leider mußte ich darauf verzichten, die Arbeit der Tiere quantitativ durch Kohlensäurebestimmungen zu ermitteln, eine große darauf verwendete Mühe ergab keine ganz einwandfreien Resultate.

2. Versuche mit arbeitenden und ruhenden Tieren in einer Salzsäuredämpfe enthaltenden Atmosphäre.

Am Menschen sind akute und subakute Salzsäuredampfvergiftungen ziemlich selten beobachtet, eher chronische Vergiftungen durch kleine Mengen. Die eingehenden Tierversuche von Prof. Lehmann (Arch. für Hygiene, Bd. V, 1886, S. 1) haben am Tier die akuten Vergiftungen bei den verschiedensten Konzentrationen untersucht und namentlich Anätzungserscheinungen mit nachfolgenden Entzündungen beobachtet. Die Nase zeigte häufig Nekrose. Prof. Lehmann hat die höchst zulässige Norm der Konzentration der Salzsäuredämpfe in der Luft der Arbeitsräume auf dem Versuchswege festgestellt (0,1—0,14 Volummille). Diese Zahlen sind später auch von anderen Forschern (E. Ranzoni u. a.) als richtig anerkennt.

Für die Herstellung der gewünschten Salzsäurekonzentration in der Atmosphäre preßte ich nach dem Vorgang von Prof. Lehmann einen sehr kleinen, aber gleichmäßigen Luftstrom durch eine Flasche mit starker Salzsäure. Der dadurch ausgetriebene Salzsäuredampf strich durch eine Flasche mit konzentrierter Schwefelsäure und wurde dann dem durch die große Gasuhr angesaugten Reinluftstrom kurz vor seinem Eintritt in die Versuchskammer beigemischt. Die Mischung der Giftluft und der

Ventilationsluft wurde in einem kleinen Glasapparat, in dem es zu Wirbelbildung kommt, noch zu verbessern gesucht.

Um die in der Luft der Kammer befindlichen Salzsäuremengen zu bestimmen, nahmen wir nach gewissen Zeitabständen Luftproben aus der Kammer. Gleichzeitig wurden derartige Luftproben aus der Trommel selbst durch eine Glasröhre, die sich in der Mitte der hohlen Achse befand, genommen. Jede zur Untersuchung gewonnene Luftmenge wurde mit Hilfe einer Wasserpumpe durch einen senkrecht gestellten Zwanzigkugelapparat gesogen, der 20 ccm 5proz. chlorfreie Natronlauge (e Natrio) enthielt. Aus dem Apparat ging die Luft noch durch eine Kontrollwaschflasche mit Natronlauge von derselben Konzentration und wurde mittels einer kleinen Gasuhr gemessen. Die zweite Waschflasche enthielt keine oder nur Spuren von Salzsäure.

Den Salzsäuregehalt der Luft stellte ich durch Titrierung der Absorptionsflüssigkeit nach der Methode Mohr oder Volhard-Drechsler fest. Beide waren gut anwendbar.

Die Salzsäurekonzentrationen gaben wir überall in Volum pro Mille mit einer Genauigkeit bis zu 0,001 an. Der Salzsäuregehalt betrug in den einzelnen Versuchen von 0,07—4,3 Volum pro Mille. Der Gehalt in der Arbeitstrommel war stets etwas kleiner als in dem Kasten, wo die ruhenden Tiere weilten.

Ich gebe nun einen ganz kurzen Überblick über die Resultate der einzelnen Versuche, der immer nebeneinander die Schicksale der arbeitenden und der nichtarbeitenden Tiere zeigt.

Übersichtstabelle I (Salzsäure).

Versuchs-Nr.	Tiergewicht (in Kilo)		HCl-Konzentration (Vol. pro Mille)		Dauer des Versuchs	Schicksal gleich nach dem Versuchschluß und später
	Arbeit	Ruhe	Trommel	Kammer	Min.	
(11)	2,770		0,072		80	Erholt in 2 Tagen
		2,650		0,096	80	gleich normal
		1,850		0,096	80	gleich normal
(3)	2,250				150	normal
		1,975		0,095	150	normal
		2,200		0,095	150	normal
(5)	2,040				200	erholt sich rasch
		2,200		0,153	200	gleich normal
		2,400		0,153	200	gleich normal
(6)	2,550				120	erholt sich in einigen Tagen vollkomm.
		2,670		0,189	120	gleich normal
		3,000		0,189	120	gleich normal
(13)	2,680		0,167		150	Nasenkatarrh. Gewichtsverlust. In einigen Tagen erholt.
		1,980		0,223	150	gleich normal
(8)	2,940		0,244		190	Schwer krank. Gewichtsverlust 170 g. Trockene Nekrose des Nasenknorpels, narbige Schrumpfung d. Nasenmuscheln mit Verengung der Nasenlöcher
		2,670		0,301	190	rasch erholt
		1,780		0,301	190	rasch erholt

Versuchs-Nr.	Tiergewicht in Kilo Arbeit	Ruhe	HCl-Konzentration (Vol. pro Mille) Trommel	Kammer	Dauer des Versuchs Min.	Schicksal gleich nach dem Versuchschluß und später
(9)	2,070		0,345		145	Schwer krank. Gewichtsverlust 150 g, Nasenkatarrh, Nekrose, Nasenknorpel, Verengung der Nasenlöcher, Verkürzung der Nasenspitze, Augenätzung, Besserung in 3 Wochen.
		2,250		0,42	145	In 3 Tagen erholt
		2,320		0,42	145	In 3 Tagen erholt
(12)	2,200 Katze Nr.101		0,345		180	Schwer krank, Gewichtsverlust 200 g. Keine Freßlust, Dyspnoe. Erhebliche Zerstörung der Nasenspitze. Nach 2 Wochen durch Chloroform getötet und seziert.
		2,235		0,451	180	Erholt in einigen Tagen
(4)	1,980		—		180	Arbeitendes Tier trotz vermehrter Arbeit nicht wesentlich kränker als die Kontrollen; Erholung gleichmäßig.
		2,120		0,509	180	
		2,200		0,509	180	
(10)	2,080		0,503		130	Schwer krank, Dyspnoe, Nasenkatarrh, Niessen, Husten, Augenätzung, keine Freßlust. Am 2. Tage durch Chloroform getötet und seziert.
		2,300		0,616	130	Weniger krank. Frißt nach 2 Stunden. Besserung am 2. Tage. Durch Chloroform getötet und seziert
(7)	1,950				180	Die arbeit. Katze speichelt sofort und mehr weniger anhaltend. Später Brechbewegungen. Unruhe. — Nach Herausnahme mehrere Tage Bronchitis. Kontrollkatzen viel schwächer geschädigt. Alle 3 Tiere nach 10 Tagen erholt
		2,150		0,742	180	
		2,300		0,742	180	
(14)	2,620		4,244		360	Bewußtlos; tot in einigen Stunden. Sofort seziert: in Lungen und Magen Hämorrhagien
		1,930		4,392	360	Starke Dyspnoe, krampfhafte Zuckungen, akute Konjunktivitis, Cornea des linken Auges stark opak. In 24 Stdn. tot. Seziert: Zahlreiche kleine u. größere innere Blutungen

Allgemeinbefinden.

Bei den geringeren Dosen zeigten alle Tiere nur ganz anfangs deutliche Belästigungssymptome (Unruhe) und etwas Speichelfluß.[1])

Auch bei stärkeren Dosen trat bei den nichtarbeitenden an Stelle der anfänglichen Aufregung Ruhe (im instinktiven Bestreben, die Körperoberfläche zu verkleinern und möglichst flach zu atmen), während die arbeitenden andauernd heftige Reizsymptome zeigten.

Die Art der Respiration unterschied sich auffallend. Die Mehrzahl der nicht arbeitenden Tiere atmete die ganze Zeit gleichmäßig durch

[1]) Zuckungen und klonische Krämpfe traten fast ausschließlich bei den arbeitenden Katzen ein. Kamen sie bei den nichtarbeitenden vor, so waren sie schwächer und verspätet.

die Nase, ruhig und verlangsamt; die arbeitenden Tiere atmeten dagegen durch das Maul, die Respiration mit dem ganzen Körper unterstützend, unregelmäßig, krampfhaft und beschleunigt, an Hunde erinnernd, die durch Hitze belästigt sind.

Bei den arbeitenden machte sich Atemnot auch während der Arbeitspause bemerkbar. Die Ermüdung nahm bei den arbeitenden Katzen sehr rasch zu und entsprach keinesfalls dem Grad der ausgeführten Arbeit. Es ist sehr wahrscheinlich, daß die Veränderung der Atmungsweise durch das starke Anschwellen der Nasenschleimhäute bedingt wird, das das Atmen durch die Nase erschwert. Andererseits beschleunigt das Atmen durch das Maul die Lungenschädigungen.

Bei einer starken Konzentration (4,2—4,4 pro Mille, s. Versuch 14) nahm bei der nichtarbeitenden Katze die Erregung langsam immer mehr zu und erreichte ihren Höhepunkt erst beim Schluß des Versuches, bei der arbeitenden Katze trat schon im Beginn eine starke Unruhe ein, die nach 3 Stunden durch einen soporösen Zustand abgelöst wurde, beim Schluß des Versuches hatte die Katze gänzlich das Bewußtsein verloren.

Die ätzende Wirkung auf die Haut in der Trommel wurde weniger durch die Salzsäuredämpfe selbst als durch die flüssigen Absonderungen (größere Mengen Speichel, Harn usw.), die sich mit den Dämpfen sättigten, hervorgerufen. Die nichtarbeitenden Katzen hielten oftmals ihre Pfoten hoch, um sie vor der schmerzhaften Wirkung des feuchten Bodens der Glaskammer zu schützen; bei den arbeitenden Katzen wurden die Pfoten stärker angeätzt, da sie stets intensiv mit der Trommel in Berührung kamen.

Conjunctivitis, verstärkte Sekretion der Tränen und der Meibohmschen Drüsen, leichte Anätzung der Cornea, soweit sie nicht durch Augenschluß geschützt war, wurde bei den meisten Tieren gesehen. Im allgemeinen leiden die Augen der arbeitenden Tiere stärker, denn diese vermögen die Augen nicht so vollständig zu schließen, kommen auch vielleicht gelegentlich mit den säurefeuchten Pfoten in die Augen.

Wirkung der Salzsäure auf Mundhöhle, Nase und Lunge.

Die Speichelsekretion, die schon Lehmann ausführlich in ihren wechselnden Phasen beschrieben hat, ist ein frühes Symptom der Salzsäurereizung. Bei den arbeitenden Katzen begann die Speichelsekretion früher und ließ früher nach — als ob der Speichelvorrat erschöpft wäre.

Die Anätzung der Nasen (vgl. Lehmann l. c.) ist bei den Arbeitenden viel früher und stärker: Die Nasenspitze rötet sich zuerst, wird feucht, dann wieder blaß, bisweilen bläulich und wieder trocken. Dosen von 0,25 Vol. pro Mille an brachten eine spätere nekrotische Zerstörung des vordersten Teils der Nase unter Vertrocknung, Schrumpfung und narbiger Abstoßung von Gewebeteilen unter Verengung der Nasenlöcher hervor.

In einem Falle trat auch eine Zerstörung der Nasenspitze ein, an deren Stelle sich allmählich eine Öffnung bildete von der Form eines gleichseitigen Dreiecks, dessen Seite ca. 1 cm maß. Im Innern dieses Trichters befand sich Schleim, der sich bei der Respiration etwas bewegte, aber kaum Luft durchließ.

Bei den arbeitenden Katzen war starkes Niesen und Husten bis zum Erbrechen nach den Versuchen häufig. Die nichtarbeitenden Tiere zeigten alle Störungen in wesentlich geringerem Grade, keine ruhende Katze zeigte bleibende Nasenschädigungen.

Bei den arbeitenden Tieren tritt während des Versuchs, auch bei schwächeren Konzentrationen, in kurzer Zeit Lufthunger ein, zu dessen Überwindung Anstrengung der Hilfsmuskeln nötig ist. Bei den ruhenden Katzen tritt die Atemnot erst bei starken Konzentrationen der Salzsäuredämpfe zum Schlusse des Versuchs ein.

Die Sektion unmittelbar nach dem Versuch zeigte die von Lehmann früher beschriebenen Symptome: Hyperämie, Ödem, Ecchymosen, Emphysem der Lungen, bei den arbeitenden Tieren regelmäßig stärker als bei den ruhenden. Die mikroskopische Untersuchung ergab ähnliche Unterschiede. Ließ man die Tiere nach dem Versuch am Leben, so zeigten die ruhenden Tiere meist leichte, bald zurückgehende Katarrhe, die arbeitenden meist schwere Bronchititen und mehr oder weniger ausgebreitete Lungenentzündungen — hiermit stimmten die Sektionsergebnisse.

Magen- und Darmkanal.

Die großen Mengen der Salzsäuredämpfe, die vom Speichel absorbiert werden, üben beim Schlucken eine Reizwirkung auf die Schleimhäute des Verdauungskanals aus. Dies äußert sich während der Versuche durch die Brechbewegungen und nach dem Versuch durch Appetitlosigkeit. Die Tiere lehnen nach dem Versuch in der Regel in der ersten Zeit jede Nahrung ab. Die ruhenden Tiere zeigen aber schon einige Stunden darauf Trinklust und nehmen sogar feste Nahrung an. Diejenigen Versuchstiere, die in derselben Konzentration von Salzsäuredämpfen Arbeit ausführten, verweigerten jedoch jegliche Nahrung oftmals im Laufe einiger Tage.

Bei der Sektion war die Speiseröhre bei diesen Tieren gerötet und am unteren Ende zeigten sich kleinere Blutungen. Die Magenschleimhaut in der Gegend der großen Kurvatur zeigte, insbesondere im oberen Teil, eine bedeutende Anzahl von dunkelroten Fleckchen, 2 mm im Durchmesser. Einzelne Ecchymosen waren auf der Oberfläche der Magenschleimhaut zerstreut, stellenweise waren auch aufsitzende runde Blutklümpchen zu verzeichnen, gleichfalls 2 mm im Durchmesser.

Zusammenfassung der Salzsäureversuche.

Die Versuche über den Einfluß der Arbeit auf die Wirkung des Salzsäuregases fasse ich in folgende Sätze zusammen:

Konzentrationen bis zu 0,22 Vol.‰ hatten in 2 Stunden auf ruhende Katzen gar keine Wirkung, auf arbeitende höchstens eine leichte, von der sich die Tiere in wenigen Tagen erholten (Schleimhautreizung). Bis zu 3 Stunden einwirkende Konzentrationen von 0,24—0,74 Vol.-‰ machten die ruhenden Katzen leicht krank, erzeugten aber bei den arbeitenden schwere pathologische Veränderungen des ganzen Luftweges von der Nase bis zu den Alveolen, Veränderungen, die zum großen Teile nicht mehr reparabel waren. 6stündiger Aufenthalt in einer Atmosphäre

mit 4,3 Vol.-‰ Salzsäure schädigten die arbeitende Katze derart, daß sie in wenigen Stunden starb; die ruhende überlebte die Einwirkung immerhin 24 Stunden.

Anhang: Gibt es eine Gewöhnung an Salzsäure.

Da Tiere im Apparat nur gut „arbeiten", wenn sie vorher etwas daran gewöhnt sind, was immer Zeit in Anspruch nimmt, so lag es nahe, Tiere, die bei leichter Konzentration im Rad gearbeitet hatten, ohne dabei merklich geschädigt zu sein, ein zweites Mal einige Wochen später zu verwenden. Eine Gewöhnung konnte ich dabei nicht feststellen, im Gegenteil, es speichelten Tiere, die einmal im Rade bei Salzsäurezutritt gearbeitet hatten, bei einem zweiten Versuche, sie dies tun zu lassen, früher als die ruhenden Kontrolltiere, obwohl die Arbeit noch nicht begonnen hatte. (Angst?)

Einige weitere Versuche zeigten folgendes: Bringt man in eine Holzkiste einige Tropfen Salzsäure und eine Schicht Holzwolle und setzt eine Katze, die noch nie mit H Cl zu tun hatte, und eine zu H Cl-Versuchen verwendete hinein, so zeigt die frische regelmäßig spätere Speichelsekretion. — Verwendet man 3 Katzen: 1. Eine frühere Salzsäurearbeitskatze, 2. eine, welche einmal kurze Zeit in der Salzsäurekiste gewesen ist und 3. eine frische, so zeigen sie, wenn sie in eine Salzsäurekiste gebracht werden, in der angegebenen Reihenfolge Speichelsekretion. Jedenfalls deuten diese Versuche nicht auf eine rasche Gewöhnung an Salzsäure. Man müßte aber die Frage in der Weise studieren, wie dies Prof. Lehmann für Ammoniak und Chlor mit positivem Ergebnis getan hat. (Arch. für Hygiene, Bd. 20, S. 272.)

3. Versuche mit arbeitenden und ruhenden Tieren in einer Tetrachlorkohlenstoff enthaltenden Atmosphäre.

Es schien interessant, auch bei einem narkotischen Gift (CCl_4) die Wirkung der Arbeit zu prüfen und sie mit der eines Reizgiftes zu vergleichen.

Es wurde also in meine Kammer, in der das Arbeitsrad unverändert blieb, dadurch eine dosierbare, konstante CCl_4-Gasmenge eingeführt, daß dem gemessenen Reinluftventilationsstrom ein konstanter kleiner Giftluftstrom beigemengt wurde, der eine gewogene CCl_4-Flasche durchstrichen hatte. Waren pro Stunde 2000 mg CCl_4 verdunstet und betrug die Ventilation 400 l, so war der Gehalt 5 mg. Ich überzeugte mich von der Zuverlässigkeit der Methode auch durch direkte CCl_4-Bestimmungen nach der im Würzburger Institut mehrfach angewendeten Methode (Lehmann und Hasegawa A. H. 72, 327).

Die beiden Methoden gaben sehr gute Übereinstimmung, die Berechnung blieb 3—10%, meist 5% hinter der direkten Bestimmung zurück — ein Beweis, daß der Versuchskasten etwas CCl_4 chemisch oder physikalisch absorbiert. Meine Zahlen sind meist berechnet und um 5% vermindert.

Die Versuche wurden nach demselben Schema wie die mit Salzsäure ausgeführt. Der Unterschied bestand nur darin, daß ich ein und dasselbe Tier nacheinander im arbeitenden und im ruhenden Zustande beobachtete und seinen Zustand entsprechend mit dem des Kontrolltieres verglich. Dies war deshalb möglich, weil es sich bei unseren Konzentrationen um eine nur leichte, vorübergehende Tetrachlorkohlenstoff-Vergiftung handelte, die keine dauernde Störungen hervorrief — mit ähn-

Übersichtstabelle II (Tetrachlorkohlenstoff).

Versuchs-Nr.	Tiergewicht (in Kilo) Arbeit	Ruhe	CCl_4 (mg pro l)	Versuchsdauer Min.	Symptome des Tieres während des Versuchs, Respirationszahl in Minuten
(1)	1,900		24,2	60	Nach 5 Min. Respiration 120, nach 12 Min. Zuckungen, Maulaufsperren, Zunge vorgestreckt; nach 35 Min. Respiration 220; nach 60 Min. herausgenommen, liegt mit geschlossenen Augen, Respiration 80.
		2,350	24,2	60	Nach 10 Min. sitzt sie ruhig, Respiration 30 in 1 Min., nach 27 Min. Würgbewegungen. Nach 40 Min. unruhig, nach Herausnehmen Respiration 28, lebhaft, putzt sich
(2)	2,350		26,3	75	Nach 20 Min. Respiration 110, geringe Zuckungen, Verlust des Gleichgewichtsgefühls; nach 27 Min. Respiration 190, Maul offen, Zunge vorgestreckt; nach 55 Min. während der Arbeitspause Respiration 200, liegt, Augen zu, Maul offen, Zunge in ständiger Bewegung. Nach 70 Min. Respiration 260, bewußtlos. Nach Herausnahme liegt es auf der Seite mit geschlossenen Augen, Respiration 100. Erst in 30 Min. erhebt es den Kopf, bleibt jedoch liegen. Respiration 40. Nach 60 Min. vollkommen normal.
		1,900	26,3	75	Sitzt nach 15 Min. ruhig, Resp. 28, putzt sich nach 30 Min., Resp. 36; nach 60 Min. wechselt es von Zeit zu Zeit die Lage, schwankt etwas. Nach 70 Min. Resp. 28, sitzt ruhig. Augen offen. Läuft nach Herausnehmen unsicher, Resp. 28, putzt sich.
(4)	2,350		56,0	60	Kann sich nach 10 Minuten kaum bewegen, bleibt nach 20 Min. liegen, reagiert nicht auf Bewegungen in der Trommel, schläft nach 40 Min. tief, nach 50 Min. status idem, Resp. 20; nach 58 Min. zittert am ganzen Leibe. Liegt nach Herausnahmen ruhig atmend, erhebt nach 8 Min. den Kopf, versucht aufzustehen, fällt jedoch.
		2,000	56,0	60	Nach 15 Min. etwas Speicheln. Nach 20 Min. Unruhe, nach 25 Min. liegt es, nach 30 Min. Bewegungsversuche, läuft unsicher. Resp. 18. Nach 50 Min. Zuckungen in den Hinterbeinen. Nach Herausnehmen bewegt es sich unsicher. Schon nach 5 Min. lebhafte Bewegungen. Nach 10 Min. sitzt und putzt sich.

Übersichtstabelle II (Fortsetzung).

Versuchs-Nr.	Tiergewicht (in Kilo) Arbeit	Ruhe	CCl_4 (mg pro l)	Versuchsdauer Min.	Symptome des Tieres während des Versuchs, Respirationszahl in Minuten
(5)	1,950		58,9	37	Nach 3 Min. beleckt es sich, nach 6 Min etwas Speicheln, nach 10 Min. Resp. 68, nach 25 Min. Zuckungen und Strecken der Beine, bleibt liegen, reagiert nicht. Nach Herausnehmen zittert es mit den Extremitäten, liegt auf der Seite und erst nach 7 Min. hebt es den Kopf hoch. Resp. 80. Nach 15 Min. Resp. 90. Nach 25 Min. leidlich erholt.
		2,350	58,9	37	Sofort Speichelsekret. Nach 15 Min. beleckt es sich, nach 30 Min. steht es auf, wankt beim Gehen, nach 35 Min. liegt es, Resp. 12. Nach Herausnehmen niest es, Muskeln rigid, nach 12 Min. steht es auf und läuft mit unsicheren Bewegungen, einige Minuten später macht es einen normaleu Eindruck.
(3)	2,000		80	27	Nach 5 Min. Resp. 30, nach 20 Min. starke Zuckungen, läuft nicht mehr, Resp. 26, nach 23 Min. Ohnmacht. Nach Herausnehmen liegt es 3 Min. auf der Seite, Hinterbeine zucken, zittert etwas am ganzen Körper, Resp. 74. Nach 6 Min. erhebt es den Kopf und versucht aufzustehen. Nach 10 Min. geringe Speichelsekretion. Nach 15 Min. normal.
		2,350	80	27	Nach 5 Min. sitzt es ruhig, Resp. 20. Nach 10 Min. Unruhe, bewegt sich wankend ringsherum; nach 25 Min. bleibt liegen, Resp. kaum bemerkbar. Nach Herausnehmen liegt mit offenen Augen und steht nach 3 Min. bereits auf, bewegt sich unsicher, aber lebhaft, schnurrt und putzt sich. Einige Min. später ganz normal.
(6)	2,350		207	35	Nach 5 Min. etwas Speicheln und gleich darauf Spannung in allen Muskeln. Schwanken. Nach 10 Min. Zuckungen in den Beinen, bald stark, bald schwächer zitternd. Nach 12 Min. ohnmächtig, reagiert nicht, Resp. 8. Nach 30 Min. Narkose. Nach Herausnehmen fehlt der Corneareflex. Nach 10 Min. Resp. 70, reagiert nicht. Nach 20 Min. langsam erholt.
		1,950	207	35	Nach 12 Min. Speichelsekretion, sitzt ruhig, nach 20 Min. liegt es auf der Seite, erhebt jedoch den Kopf, Speichelsekretion, nach 27 Min. liegt mit geschlossenen Augen, Resp. 22, nach 35 Min. Narkose. Nach Herausnehmen Corneareflex vorhanden, nach 2 Min. niest es, beschleunigte Resp., Zittern, Laufbewegungen. Nach 3 Min. steht es auf und nach 5 Min. läuft es.

lichen Konzentrationen hat die Fabrikhygiene für den Menschen zu rechnen.

Nachstehend bringe ich eine Übersichtstabelle über 6 Versuche, welche bei einer Konzentration von 24 bis 207 mg CCl_4 pro 1 l Kammerluft ausgeführt wurden. Die Versuche dauerten 30—75 Minuten. Bei diesen sowie bei den vorhergehenden Versuchen mit Salzsäuredämpfen war meine Aufmerksamkeit vorwiegend auf die Feststellung des Unterschiedes der Wirkung des CCl_4 auf den Organismus des Versuchstieres während der Arbeit und während der Ruhe gerichtet.

Wie wir aus dem kurzen Protokollauszuge sehen, äußert sich bei einer längeren Beobachtung der Unterschied der Einwirkung des Tetra-Chlorkohlenstoffs auf den Organismus der Tiere während der Arbeit und im ruhenden Zustande besonders stark bei kleinen Konzentrationen. Der Erregungszustand ist dabei bei den arbeitenden Tieren im Gegensatz zu den ruhenden stark ausgeprägt, die Atmung ist um das 4—5fache stärker als bei einem in derselben Atmosphäre ruhig sitzenden Tiere, die ganze Atmungsart ist verändert, die narkotische Wirkung und die Gleichgewichtsstörungen treten früher in den Versuchen ein und halten auch etwas länger nach dem Versuche an.

Bei starken Konzentrationen verliert das arbeitende Tier sehr schnell das Gleichgewichtsgefühl und hört auf, auf die Bewegung der Trommel zu reagieren, so daß der Effekt der Arbeit sich automatisch vermindert und der Unterschied im Zustande der Tiere während des Versuches nicht so auffällt wie bei schwachen Konzentrationen. Im übrigen hält der narkotische Zustand nach dem Versuche etwas länger vor. Die Muskelspannung, Zuckungen und Laufbewegung der Hinterbeine erscheinen bei arbeitenden Tieren schon bei kleineren Konzentrationen von CCl_4 und halten viel länger vor als bei ruhenden Tieren.

Zusammenfassung.

Salzsäure und Tetrachlorkohlenstoff, also ein reizendes und ein narkotisches Gas, wirken insbesondere bei kleineren Dosen auf das arbeitende Tier erheblich stärker als auf das ruhende, in erster Linie durch die verstärkte Atmung, zu welcher die Arbeit zwingt. Es sind also die bisher an ruhenden Tieren festgestellten Zahlen über die Erträglichkeit giftiger Gase Maximalwerte, die bei Arbeit wesentlich kleiner ausfallen. Ich hoffe, daß diese Arbeit, die ein neues Gebiet betrifft, zu weiteren Studien Veranlassung gibt.

Über die Gefährdung von Mensch und Tier durch große Konzentrationen einiger giftiger Gase von der Haut aus.

(Kohlenoxyd, Schwefelwasserstoff, Blausäure, Anilin.)

Von

Walter Schütze, cand. med.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Würzburg. Leiter: Geh. Rat Professor Dr. K. B. Lehmann.)

(Bei der Redaktion eingegangen am 17. Dezember 1926.)

Vorbemerkung.

Mir wurde von Herrn Geheimrat Prof. Dr. Lehmann die Aufgabe gestellt, systematisch die Giftwirkung starker Konzentrationen von Kohlenoxyd, Schwefelwasserstoff, Blausäure und Anilin in Gasform von der Haut aus an Tier und Mensch zu prüfen. Die Frage ist zwar auch schon von anderer Seite in Angriff genommen, zum Teil aber mit so widersprechenden Resultaten, daß meine Untersuchung zur Klärung beitragen wird.

Herrn Geheimen Rat Prof. Dr. K. B. Lehmann danke ich für die Überlassung des Themas und ihm sowie Herrn Assistenten Dr. Ludwig Schmidt-Kehl, für vielseitige Unterstützung.

A. Tierversuche.

Methodik der Versuche mit Tieren.

Es war das Problem zu lösen, Tiere so in einen Gasraum einzuschließen, daß die Haut des Rumpfes und der Extremitäten dem Giftgas, der Kopf aber vollkommen reiner Luft ausgesetzt war.

Die größte Schwierigkeit bei der Anordnung der Versuche bot die Abdichtung des Kopfes des Versuchstieres gegen den Versuchskasten. Ich glaube, durch meine endgültige Versuchsanordnung und durch dauernde Kontrolle eine völlige Sicherheit dafür bieten zu können, daß das betreffende Gas nur durch die Haut und nicht durch die Lungen aufgenommen wurde.

Ich verwendete zu meinen Versuchen einen etwa 35 l fassenden, liegenden Glaszylinder, in dem die Versuchstiere untergebracht waren (s. Abb. 1). Der Zylinder wurde durch ein Brett *d* verschlossen, wobei die Berührungsfläche mit Plastilin luftdicht abgedichtet war. Durch zwei Öffnungen des Zylinders wurden Glasröhren geführt, die das Gas zubrachten *e* und an der entgegengesetzten Seite wieder ableiteten *f*. In den zwischengeschalteten Waschflaschen *g* wurde das Gas zurückgehalten und aus der Waschflüssigkeit die Konzentration durch Absaugen bestimmter Mengen des betr. Gasgemisches bestimmt. Der Hals des Tieres wurde enthaart und mit einer Schicht von frisch zubereitetem Weizenkleber überzogen. Über den Kopf wurde straff ein dünner Gummistoff gezogen, aus dem ein relativ kleines Halsloch ausgeschnitten war; der so entstandene Gummikragen wurde außen an dem Brette luftdicht befestigt. Ich verwendete zu allen Versuchen außer den Anilinversuchen je ein Versuchstier, das auf dem Rost *b* saß. Der Rost *a* bzw. das obere Stockwerk diente für die Vergleichstiere bei den Anilinversuchen (s. o.).

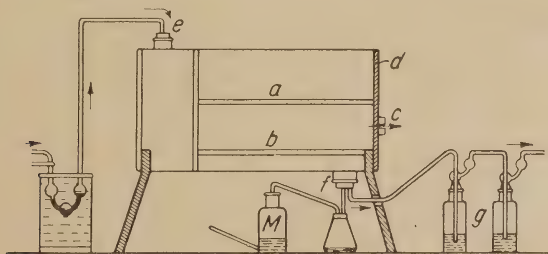


Abb. 1.

Es wurden nur gesunde, ausgewachsene Katzen verwendet, Gewichte wurden nicht festgestellt. Bevor die eigentlichen Versuche angestellt wurden, brachte ich drei Tiere bis zu 8 Stunden in den Versuchskasten, um den Einfluß der Kopffixierung auf die Tiere zu prüfen. Diese Kontrolltiere zeigten keine wesentlichen Schädigungen, sie waren jedoch nach jedem Versuch ziemlich ermüdet, so daß anzunehmen ist, daß die Zwangslage nicht ganz ohne Einfluß ist und daß bei länger als 8 Stunden dauernden Versuchen eine wesentliche Schädigung eintreten kann (s. Anilinversuch 1).

I. Kohlenoxyd-Tierversuche.

1.

Durch den Versuchskasten, in dem sich das Tier befindet, wird 1¼ Stunde lang Leuchtgas hindurchgeschickt. Das Tier zeigt keinerlei Veränderungen in seinem Verhalten, obwohl die Konzentration des Kohlenoxydgases im Würzburger Leuchtgas eine ziemlich hohe (17%) ist. Nach 75 Minuten wird der Versuch abgebrochen.

2.

Ein anderes Versuchstier bleibt 2¼ Stunden in der Leuchtgasatmosphäre; das ruhige Tier frißt vorgehaltenes Futter, seine Atmung bleibt

während des ganzen Versuches normal. Nach 2¼ Stunden wird der Versuch abgebrochen. Das Tier ist in den folgenden Tagen gesund geblieben. Da in den Morgenstunden, in denen die Versuche angestellt wurden, aus der Würzburger Gasleitung aus einem gewöhnlichen Gashahn in der Minute 9 l Gas ausströmen, so darf angenommen werden, daß schon nach kurzer Zeit der Versuchskasten fast völlig mit Leuchtgas gefüllt war.

Diese Versuche bestätigen die Resultate von Vogel (1), Schleyer (2) und Drescher (3) und zeigen, daß jedenfalls praktisch die Hautresorption des Kohlenoxydes belanglos ist. Eine minimale Resorption wäre nach den Versuchen von Gruber (4) ohne Bedeutung, der 0,3 ‰ Kohlenoxyd von der Lunge aus noch stundenlang wirkungslos fand.

II. Schwefelwasserstoff-Tierversuche.

a) Katzen.

1.

Nachdem das Tier eingespannt ist, wird der Versuchskasten mit Schwefelwasserstoff angereichert. Das Tier ist anfangs vollkommen ruhig, wird aber nach 13 Minuten äußerst unruhig; es tritt starke Salivation auf. In der 15. Minute macht das Tier, dessen Atmung plötzlich sistiert, 3 schnappende Atembewegungen, darauf sinkt der Kopf herunter, es sind keinerlei Lebenszeichen mehr zu bemerken, die Pupillen sind ad maximum erweitert.

Die Konzentration betrug 3,5 Vol.-% Schwefelwasserstoff.

Bei der Kontrolle der Versuchsanordnung durch Bleipapier und Geruchsprüfung stellt sich heraus, daß die Abdichtung am Halse nicht einwandfrei war, so daß es sicher ist, daß das Tier Schwefelwasserstoff eingeatmet hat. Bei der Sektion ist in der Brust- und Bauchhöhle Schwefelwasserstoffgeruch wahrzunehmen.

2.

Der Versuchskasten wird aus einem Gasometer mit Schwefelwasserstoff angereichert; während des ganzen Versuches ist in dem relativ kleinen Versuchszimmer kein Schwefelwasserstoffgeruch wahrnehmbar. Die Konzentration des H_2S während des Versuches wurde durch Analyse einiger abgesaugter Proben als 4,0 Vol.-%, das 40fache der von der Lunge aus rasch tödlichen Dosis von 1 ‰ bestimmt. Der Versuch wird auf 1 Stunde ausgedehnt, ohne daß man an dem Tier etwas wahrnehmen kann.

Der Schwefelwasserstoff wurde als Schwefelkupfer bestimmt.

Das Tier ist, nachdem der Versuch abgebrochen ist, sehr lebhaft und frißt mit großer Gier ihm vorgelegtes Futter; es ist auch in den folgenden Tagen gesund geblieben.

3.

Das Versuchstier ist eine ziemlich ruhige Katze. Die Versuchsanordnung ist dieselbe wie im Versuch 2, auch diesmal ist im Zimmer nicht der geringste Schwefelwasserstoffgeruch bemerkbar. Die Konzentration im Versuchsraum wurde zu 3,0 Vol.-% bestimmt. Das Tier

verhält sich während des Versuches, der eine Stunde dauert, ruhig, die Atmung bleibt gleichmäßig, an dem Tier ist nichts Auffallendes wahrzunehmen. Nach einer Stunde wird der Versuch abgebrochen. Die Katze ist drei Wochen nach dem Versuch noch gesund gewesen.

4.

Die Versuchsanordnung ist genau dieselbe wie in Versuch 2. Die Konzentration betrug in der ersten Probe 2,75 Vol.-%, in der zweiten Probe 3,3 Vol.-%. Auch in diesem Versuch ist an dem Tier nichts pathologisches wahrzunehmen. Dauer 60 Minuten.

5.

Um die Konzentration auf 100% H_2S zu erhöhen und die Haut gleichzeitig in möglichst innige Berührung mit dem Schwefelwasserstoff zu bringen, wurden Rücken und Flanken des Tieres geschoren (240 qcm = ca. ¼ der Tieroberfläche). Diesmal wird die Katze nicht in einen Glaszylinder eingeschlossen, um den großen schädlichen Raum (35—32 l) zu beseitigen, es wird vielmehr ein sehr gut abgedichteter aber lose anliegender Gummibeutel über den geschorenen Hautpartien angebracht und unter diesen der gereinigte H_2S geleitet. An dem Tier ist keinerlei Veränderung zu bemerken, ebensowenig an der Haut, obwohl dieser Versuch auf 60 Minuten ausgedehnt wird.

6.

Die Versuchsanordnung ist dieselbe wie im Versuch 5, die Konzentration ebenfalls. Die Dauer beträgt 70 Minuten, auch nach dieser Zeit zeigt das Tier nichts pathologisches.

Gegen die negativ ausgefallenen Versuche 5 und 6 scheint kein Einwand mehr möglich.

b) Meerschweinchen.

1.

Die Versuchsanordnung ist dieselbe wie im Katzenversuch 5 und 6, nur sind bei diesem Versuch der Rücken und die Flanken des Meerschweinchens mit Rhusma sehr gut depiliert. Der Versuch, der auf 60 Minuten ausgedehnt wurde, ergab ein leichtes Erythem der dem Schwefelwasserstoff ausgesetzten Haut, das Tier blieb jedoch am Leben.

2.

Ein weiterer Versuch ergab unter den gleichen Bedingungen dasselbe Resultat wie der erste Versuch. Das Abklingen des Erythems konnte ich nicht kontrollieren, da die Haare zu schnell nachwuchsen.

Diese Versuche ergeben, daß die Resultate Schleyers (2), der mit Kaninchen 45—60 Minuten lang experimentierte, richtig sind. Hochkonzentrierte Schwefelwasserstoffgemische, die, durch die Lungen aufgenommen, augenblicklich zum Tode führen würden, dringen nicht merklich durch die unverletzte Haut ein. Wie die Resultate Vogels (1), der in 12—15 Minuten seine Versuchstiere verenden sah, zustande gekommen

sind, läßt sich nicht mit Sicherheit feststellen. Nach meinem ersten Schwefelwasserstoffversuch ist vielleicht der Schluß erlaubt, daß die Abdichtung am Halse nicht einwandfrei war und die Tiere von den Lungen aus vergiftet wurden.

Die Versuche von Walton und Witherspoon (5), die Schwarzfärbung der Haut und Tod nach 38 und 45 Minuten am Meerschweinchen beobachteten, kann ich nicht bestätigen. Eine ganz geringe Dunkelfärbung der Haut, glaube ich, allerdings an meinen Meerschweinchen auch beobachtet zu haben. Einwandfrei gesehen habe ich sie aber bei meinen Selbstversuchen (s. d.).

III. Blausäure-Tierversuche.

1.

Es wird Blausäure in dem Versuchsraum entwickelt, indem man Schwefelsäure in ein Zyankalium enthaltendes Schälchen eintropfen läßt. Während des Versuches beträgt die bestimmte (nicht berechnete) Blausäurekonzentration 0,4 Vol.-%. Es zeigt sich während des Versuches, der eine Stunde dauert, nichts Auffallendes an dem Tiere. Nach einer Stunde wird der Versuch abgebrochen; das Tier ist lebhaft. 3 Wochen nach dem Versuche war es noch gesund.

2.

Die Versuchsanordnung ist die gleiche wie im vorigen Versuch. Die Konzentration der Blausäure im Kasten beträgt 2,0 Vol.-%. Der Versuch verläuft folgendermaßen:

8 Min. geringgradige Salivation Atmung *72*,
10 ,, tiefe Atmung *48*,
14 ,, Atmung *50*; Tier wird unruhig, schreit; Pupillen erweitern sich; Zunge hellrot, hängt etwas vor,
20 ,, Atmung *24*. Atmung wird immer tiefer,
27 ,, Atmung *6*. Zuckungen am Kopfe,
29 ,, Atmung nur noch vereinzelt,
32 ,, Tod.

Die Sektion ergab hellrote Farbe des Blutes, die für Blausäurevergiftung charakteristisch ist. Im Blut und in den Muskeln des Tieres konnte durch Wasserdampfdestillation qualitativ HCN nachgewiesen werden.

3.

Das zu diesem Versuche verwendete Tier war eine Katze mit langem, sehr dichtem Pelz. Der Verlauf des Versuchs, bei dem die Konzentration der Blausäure 1,16 Vol.% betrug, war folgender:

8 Min. Atmung 42, tief, es treten Zuckungen in den Muskeln der Glieder und des Kopfes auf, die vorgestreckte Zunge zeigt hellrote Farbe,
21 ,, Atmung 24, schwacher Zuckungsanfall,
22 ,, Atmung 60; 23 Minuten Atmung 132; 28 Min. Atmung 36,
45 ,, Atmung 30; abermaliger Zuckungsanfall,
72 ,, Atmung 24; es treten Zuckungen am Rumpf auf, wobei die Extremitäten freibleiben,

89 Min. Urinabgang, Pupillen maximal erweitert, Cornealreflex nur noch schwach vorhanden,
100 ,, Atmung unregelmäßig, schnarchend; heftige Zuckungen, die seit der 72. Minute nie völlig aufgehört haben,
112 ,, Atmung wiederholt aussetzend, heftigste Zuckungen,
120 ,, nur noch vereinzelte röchelnde Atemzüge,
132 ,, Cornealreflexe nicht mehr auslösbar,
142 ,, Tod.

Bei der Sektion fiel, wie im vorigen Versuch, die hellrote Farbe des Blutes auf. Im Kadaver des Tieres konnte wieder qualitativ HCN nachgewiesen werden.

Die Blausäureversuche bestätigen die Versuchsresultate Dreschers (3).

IV. Anilin-Tierversuche.

Meine Anilinversuche zeigen insofern eine Abweichung von der früheren Anordnung, als diesmal stets zwei Versuchstiere verwendet wurden, die im Versuchskasten so untergebracht waren, daß sie sich gegenseitig in keiner Weise behelligen konnten (s. Abb. 1). Das eine Tier *a* steckte völlig im Versuchskasten, auf dieses wirkte das Anilin also sowohl von der Haut aus als vom Respirationstraktus aus („Innenkatze") das zweite Tier („Außenkatze" *b*) war wie in den vorigen Versuchen mit dem Rumpf und den Extremitäten im Versuchskasten, während es mit dem Kopfe außerhalb desselben war.

Durch den Kasten wurde ein Luftstrom gesaugt, der ständig eine Flasche mit Anilin durchstrich, so daß die Luft im Kasten etwa nach einer Stunde mit Anilin gesättigt war. Es war die Temperatur im Kasten etwa 27—28°, diejenige des Anilinkolbens und der Zimmerluft 25—26°, damit war eine Anilinkondensation ausgeschlossen. Die Bestimmung des Anilingehaltes im Kasten geschah durch Absaugung von kleinen Proben von 3—5 l mittels eines Aspirators. durch Schwefelsäure. Das Anilin wurde als Tribromanilin gefällt und der zugesetzte Bromüberschuß jodometrisch ermittelt. Es schien richtig, auf alle indirekten Anilinbestimmungsmethoden zu verzichten, da der Kasten, die Holzroste, der Holzdeckel und wohl auch die Tierhaare den Anilingehalt verringerten und zudem die Innenkatze Anilin durch die Lungen aufnahm.

1.

Nach den folgenden Versuchen zu schließen, dürfte die nicht durch Analyse festgestellte Konzentration dieses ersten Versuches etwa 0,6 mg pro Liter haben.

Der Verlauf des Versuches war für die Innenkatze der für Anilinvergiftung typische (nach 4 Stunden erhöhte Atmung von 90; nach 4 Stunden 30 Minuten von 250; nach 8 Stunden 56 Minuten Tod).

Die Außenkatze wird bis zum Ablauf der 12. Stunde beobachtet; sie ist bis nach 8 Uhr 30 Min. sehr unruhig, wird aber dann viel ruhiger und schläft gegen Ende des Versuches meist.

Aus dem Versuchskasten genommen, zeigt sie starke Ermüdun und bleibt liegen, wo man sie hinlegt, beobachtet aber noch scharf ihr Umgebung, im Stall trinkt sie die ihr vorgesetzte Milch nicht, hat si aber im Laufe der Nacht noch getrunken. Am nächsten Morgen starb das Tier. Die Sektion ergab keinerlei Veränderungen. Im Blut war kein Methämoglobin nachweisbar. Der Tod dieses Tieres ist wahrscheinlich auf die zu lange Zeit dauernde Zwangshaltung zurückzuführen.

Die Sektion der Innenkatze ergab den für Anilin typischen Befund (Methämoglobin).

2.

Die Versuchsanordnung war dieselbe wie im vorigen Versuch. Die Innenkatze war ein kräftiges Tier. Das Außentier verhält sich während des ganzen Versuches äußerst ruhig. Die Konzentration betrug 1,33 mg pro Liter.

Innentier.

Bei Beginn . . .	30	Atemzüge,	
nach 3 Uhr . . .	68	,,	Salivation,
nach 6 Uhr 30 Min.	116	,,	

Nach 6 Stunden 30 Min. wird das Innentier herausgenommen, da es noch zu einem therapeutischen Versuch verwendet werden soll. Es liegt im Käfig auf der Seite und macht einen elenden Eindruck. Es starb in der folgenden Nacht, nachdem sich in den nächsten Stunden Zuckungen in den Extremitäten und Salivation eingestellt hatten. Im Blute konnte Methämoglobin nachgewiesen werden.

Das Außentier macht einen vollkommen gesunden Eindruck und frißt ihm vorgelegtes Futter. Dauer des Versuches 8 Stunden.

3., 4., 5.

Die Ergebnisse meiner weiteren Anilinversuche 3, 4 und 5 mit 0,82, 2,2 und 2,0 mg pro Liter Konzentration waren ganz die gleichen wie im Anilinversuch 2. Als Außenkatze verwendete ich immer das gleiche Tier, das noch 3 Monate nach dem letzten Versuch gesund war.

Es wird also auch eine wesentliche Anilinaufnahme durch die Haut nicht in Frage kommen.

B. Selbstversuche.

Bevor ich meine Selbstversuche machte, stellte ich wie bei meinen Tierversuchen Kontrollversuche an, um zu wissen, welchen Einfluß die Zwangslage und die Stellung durch die zu verwendende Membrane ausüben.

Ich benutzte zu meinen Blausäure-, Schwefelwasserstoff- und Leuchtgasversuchen meinen Arm, den ich in einen 80 cm langen viereckigen Blechkasten hineinbrachte; dieser war auf 2 Längsseiten und auf der Oberseite mit großen Fenstern versehen, um den Arm genau beobachten zu können. Wie bei meinen Tierversuchen entwickelte ich auch hier die notwendige Menge Blausäure im Versuchskasten selbst.

Der Arm wurde gegen den Kasten ähnlich abgedichtet wie bei meinen Tierversuchen. Der dünne Gummistoff wurde über den Arm gestreift und mit Heftpflaster an diesem und dem Versuchskasten befestigt. (Kleber wurde hierbei nicht verwendet; das Pflaster wurde noch mit Paraffin bestrichen zur besseren Abdichtung.)

Mit den Fingern der eingeschlossenen Hand bewegte ich fleißig eine Korkplatte, um die Luft im Raume möglichst mit der Blausäure zu mischen.

Aus einer seitlichen Öffnung wurde eine bestimmte Menge Blausäure-luftgemisch (3 Proben zu je 2 l) durch Waschflaschen gesaugt, deren Inhalt (Natronlauge) die Blausäure zurückhielt. Jodometrisch wurde dann der Gehalt an Blausäure in der Natronlauge bestimmt.

Um die Säurewirkung zu prüfen, stellte ich vor meinen Blausäureversuchen noch einen Kontrollversuch an, bei dem ich eine Schale mit rauchender Salzsäure in dem Versuchsraum aufstellte. Ich lasse hier das Protokoll von diesem Versuch folgen:

2 Min. heftiges Brennen an einer kleinen Wunde am Daumen,
5 ,, Brennen in den Endphalangen,
0 ,, Brennen pflanzt sich auf die untere Seite des Handrückens und den Daumenballen fort,
3 ,, greift auf die Beugeseite und in geringerem Maße auf die Streckseite des Vorderarmes über,
6 ,, heftiges Brennen auf der Vola,
2 ,, unerträgliches Brennen in der ganzen Hand,
3 ,, Abbruch wegen der Unerträglichkeit des Brennens.

Nach dem Versuch an Hand und Arm nichts Besonderes festzustellen. Es ist auffallend, daß eine deutliche lokalisierte oder diffuse Rötung nicht beobachtet wurde, sicher ist aber Salzsäure bis zu den sensiblen Hautnervenenden gelangt.

I. Blausäure-Selbstversuche.

Versuch 1 (0,6 Vol.-%).

0 Min. keine Symptome.

Versuch 2 (Ohne Konzentrationsbestimmung).

3 Min. Ameisenkriechen auf Beuge- und Ulnarseite sowie Palmarfläche der Haut,
5 ,, Auftreten von 12 feinen flohstichartigen hellroten Flecken, Abbruch.

Versuch 3 (5,5 Vol.-%).

2 Min. Prickeln in der Hand,
5 ,, Prickeln in der Hand und Streckseite des Unterarmes,
8 ,, starkes Prickeln in Fingern und Beugeseite des Armes,
0 ,, starkes Prickeln im ganzen Arm,
2 ,, Abbruch,
5 ,, kein Prickeln mehr. Nach dem Waschen in der Vola Taubheitsgefühl. 3 Stunden nach Abbruch des Versuches Schwere im Kopfe wie nach einem alkoholischen Exzeß.

Versuch 4 (2,2 Vol.-%).

9 Min. auf der Beugeseite erscheinen an der ulnaren Kante hellrote Marmorierungen,
11 ,, Prickeln auf dem Handrücken,
12 ,, das Prickeln verstärkt sich,
14 ,, Ineinanderfließen der Marmorierungen,
27 ,, Abbruch wegen Schwächegefühls, das wenige Minuten nach Abbruch vorübergeht. Es finden sich am Unterarm wie bei Versuch 1 feinste hellrote Blutungen (17), die in den folgenden Tagen immer dunklere Farben annehmen und in den folgenden Wochen nur ganz allmählich verschwinden.

II. Schwefelwasserstoff-Selbstversuche.

Versuch 1 (ohne Konzentrationsbestimmung).

Der Arm befand sich in dem oben beschriebenen Blechkasten, die Konzentration wurde nicht bestimmt (sie dürfte 10—20 Vol.-% betragen haben):

20 Min. Hitzegefühl,
30 ,, Abbruch wegen Undichtigkeit des Verschlusses.

Nach Abbruch ist die Volarseite der Hand besonders an den Fingerbeeren und in der Interdigitalfalte zwischen Daumen und Zeigefinger geschwärzt[1]). Mit Seife und Bürste gelingt es nicht, diese Schwarzfärbung abzuwaschen.

20 Minuten nach Abbruch treten am ausgesetzten Arm rote Marmorierungen auf, die nach 10 Minuten wieder verschwinden.

25 Minuten nach Abbruch heftiges Brennen in Hand und Arm, das 90 Minuten anhält und dann allmählich wieder verschwindet.

Versuch 2 (25,9 Vol.-%).

Die Versuchsanordnung war dieselbe wie bei Versuch 1.

10 Min. Schweißausbruch in der Hand,
15 ,, Schwärzung der Hand,
30 ,, Hitze im Vorderarm,
35 ,, Brennen im Vorderarm,
50 ,, Abbruch.

10 Minuten nach Abbruch Brennen und Hitze im Vorderarm; verstärkt sich bis nach 40 Minuten immer mehr. Nach 90 Minuten ist das Brennen verschwunden. Nach Abbruch sind am ausgesetzten Arm eine Unmenge flohstichartiger Rötungen zu sehen, die sich bis zum nächsten Tag fast völlig wieder verloren haben, also eher Hyperämien als Blutungen gewesen zu sein scheinen.

1) Es liegt nahe, anzunehmen, daß diese Schwarzfärbung auf Bildung von Eisensulfid beruhe; mehr darf ich trotz einiger Versuche hierüber nicht sagen. Ich beabsichtige in Kürze weitere Versuche anzustellen.

Versuch 3 (100 Vol.-%).

Bei diesem Versuch wurde um den größten Teil des Vorderarms ein lockerer, ziemlich enger, oben und unten festgeklebter Gummiärmel gelegt und während des ganzen Versuchs ein Strom konzentrierten, gereinigten Schwefelwasserstoffs durchgeleitet. Der Versuch wird auf 60 Minuten ausgedehnt. Auch diesmal ist die exponierte Haut schwarz gefärbt. Dort wo der Schlauch, der den H_2S zubrachte, die Haut berührte, hat sich eine Blase gebildet, die der Größe des Schlauchquerschnittes entspricht. 10 Minuten nach Abbruch heftiges Brennen im exponierten Teil, das sich



Abb. 2.

nach 90 Minuten wieder verliert. Am folgenden Tag Erythem an der Hautstelle, die dem Schwefelwasserstoff ausgesetzt war (siehe Abb. 2[1]). Dieses ist nach 7 Tagen wieder verschwunden. Am ersten Tag bestand heftiges Jucken und Brennen an dem erythematösen Arm.

Versuch 4 (100 Vol.-%).

Bei diesem Versuch wurde eine kleine Glasglocke mit Röhrenansätzen für Zu- und Ableitung des Gases mit Heftpflaster auf dem Arm befestigt und konzentrierter Schwefelwasserstoff durchgeleitet (siehe Abb. 3).

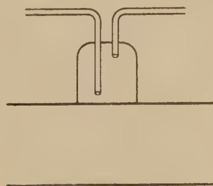


Abb. 3.

Dieser Versuch wird bei einer Temperatur von 40° C vorgenommen und auf 60 Minuten ausgedehnt. Nach Abbruch ist an der ausgesetzten Hautpartie eine deutliche Verdunkelung zu sehen. Die geschwärzte Haut konnte mit n/10-Salzsäure unter intensivem Reiben gereinigt werden. Nach

1) Der kleine schwarze Fleck auf der Radialseite rührt von Jodtinktur her, mit der eine kleine Verletzung angestrichen wurde.

Abbruch finden sich ulnar von der ausgesetzten Partie bis in die Nähe de Handgelenks breite rote Marmorierungen (Kapillargefäßlähmungen), di in den folgenden 6 Stunden wieder verschwinden.

20 Minuten nach Abbruch Brennen in der exponierten Haut, das nac weiteren 30 Minuten wieder verschwindet.

4 Stunden nach Abbruch Hitzegefühl und Erythmen in der ausgesetzte Haut. Das Erythem ist nach 3 Wochen noch nicht völlig verschwunde (siehe Abb. 4).

Versuche 5 und 6 (100 Vol.-%).

Die Versuchsanordnung war dieselbe wie bei Versuch 4. Diese Ver suche wurden in der Kälte bei 4 bzw. 6° C vorgenommen. Nach Schlu der Versuche, die 60 Minuten dauerten, war immer in der ausgesetzte Haut eine minimale Schwarzfärbung zu sehen und einige Zeit (20 Minute etwa) danach trat Brennen auf, das etwa eine Stunde anhielt und dan allmählich wieder verschwand. Erythem war nicht zu beobachten.

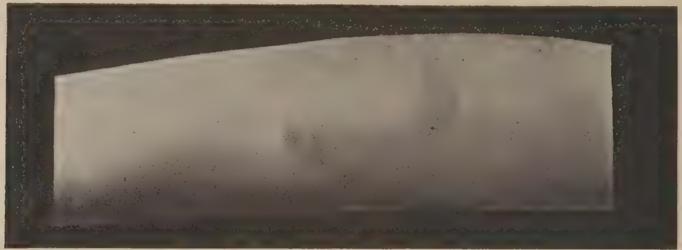


Abb. 4.

III. Kohlenoxyd-Selbstversuche.

Der Arm befand sich in dem obigen mit Leuchtgas durchströmten Glas zylinder.

Der erste Versuch, der 40 Minuten dauerte, ergab nichts.

Der zweite Versuch, der auf 90 Minuten ausgedehnt wurde, ergal ebenfalls weder lokale Symptome noch Störung des Allgemeinbefindens Die Konzentration dürfte ca. 14 Vol.-% betragen haben (s. Tierversuche) da ich bei den Versuchen die ganze Zeit intensiv Leuchtgas durchleitete

IV. Anilin-Selbstversuche (0,9—1 mg im Liter).

Zu meinen Anilinselbstversuchen verwendete ich einen großen Kasten in dem ich bequem sitzen konnte (s. Abb. 5). Der Kasten wurde mit einen Deckel so geschlossen, daß zwischen Kasten und Deckel eine Wasser schicht die Kastenluft von der Atmosphäre trennte. Im Deckel befan sich eine größere Öffnung, durch die der Kopf herausragte, der Hals wa wie bei den übrigen Versuchen gegen den Kasten abgedichtet, durch ein seitliche Öffnung konnte die Kastenluft zur Konzentrationsbestimmun abgesaugt werden. Die Anilinatmosphäre im Kasten erzeugte ich dadurch daß ich unter dem Stuhl eine große, mit Anilin gefüllte Porzellanschal

aufstellte und im Kasten ein größeres mit Anilin befeuchtetes Tuch aufspannte, durch die Verdunstung des Anilins wurde eine Atmosphäre erzeugt, wie sie nur in den schlimmsten Fällen in der Praxis vorkommen dürfte.

Ich dehnte meine beiden Anilinversuche über 4 Stunden aus, ohne irgendwelche Erscheinungen an mir zu merken, die Konzentration bei meinem ersten Versuch betrug 1,0 mg pro Liter, während sie beim zweiten 0,9 mg betrug. Der während des Versuches mehrfach entleerte Urin ergab, ebenso wie das Destillat des alkalisch destillierten Harnes, negative Fichtenspanreaktion. Nach dem zweiten Versuch rieb ich mir den Körper mit Watte



Abb. 5.

ab, die mit 3proz. Schwefelsäure getränkt war. In dieser Watte war die Fichtenspanreaktion auch negativ, ein Zeichen dafür, daß sich am Körper kein Anilin niedergeschlagen hatte.

Zusammenfassung.

1. Kohlenoxyd und Anilin werden als Gase resp. Dämpfe von der Haut nicht in nennenswerter Weise absorbiert. Die höchsten angewendeten Konzentrationen waren: Kohlenoxyd 14 Vol.-%, Anilin 2,2 mg im Liter, d. h. Dosen von Kohlenoxyd, die bei Einatmung äußerst rasch, von Anilin, die in einigen Stunden zum Tode führen.

Tabellarisch zusammengefaßt ergibt sich:

Übersichtstabelle der Tierversuche.

	Versuch	Tier	Dauer	Ausgang	Konzentration Vol.-%	Sektion	Bemerkungen
CO	1	Katze 1	1 h 15′	—	ca. 14	—	Keine Symptome
CO	2	Katze 2	2 h 15′	—	ca. 14	—	Keine Symptome
H_2S	1	Katze 1	15′	Tod	3,5	In Brust- und Bauchhöhle H_2S-Geruch	Die Abdichtung war unvollkommen
H_2S	2	Katze 2	60′	—	4,0	—	Keine Erscheinungen
H_2S	3	Katze 3	60′	—	3,0	—	„
H_2S	4	Katze 12	60′	—	3,0	—	„
H_2S	5	Katze 12	60′	—	100	—	„
H_2S	6	Katze 12	1 h 10′	—	100	—	„
H_2S	7	Meerschw. 1	60′	—	100	—	Leichtes Erythem
H_2S	8	Meerschw. 1	60′	—	100	—	„
HCN	1	Katze 3	60′	—	0,4	—	Keine Symptome
HCN	2	Katze 3	32′	Tod	2,0	Blut hellrot	In Blut und Körper HCN nachgewies.
HCN	3	Katze 4	2 h 22′	Tod	1,2	Blut hellrot	Im Körper HCN nachgewiesen.
Anilin	1	Jk 5 [1])	8 h 56′	Tod	0,6 mg im l	Methämoglobin	—
Anilin		Ak 6 [2])	12 h	Tod		—	Starb an der Fesselung
Anilin	2	Jk 7	6 h 30′	Tod	1,33 mg im l	Methämoglobin	—
Anilin		Ak 8	8 h	gesund		—	Keine Symptome
Anilin	3	Jk 9	5 h	Tod	0,82 mg im l	Methämoglobin	—
Anilin		Ak 8	5 h	gesund		—	Keine Symptome
Anilin	4	Jk 10	2 h 5′	Tod	2,2 mg im l	Methämoglobin	—
Anilin		Ak 8	8 h	gesund		—	Keine Symptome
Anilin	5	Jk 11	8 h 30′	Tod	2,6 mg im l	Methämoglobin	—
Anilin		Ak 8	8 h	gesund		—	Keine Symptome

1) Jk bedeutet Innenkatze, die durch Haut und Lungen Gift aufnehmen konnte. — 2) Ak bedeutet Außenkatze.

Übersichtstabelle der Selbstversuche.

	Versuch	Dauer	Konzentration Vol.-%	Bemerkungen
HCN	1	50′	0,6	Keine Symptome
HCN	2	15′		Petechien
HCN	3	22′	5,5	Nach 3 h Schwere im Kopf
HCN	4	27′	2,2	Petechien
H_2S	1	30′		
H_2S	2	50′	25,9	Petechien
H_2S	3	60′	100	Erythem
H_2S	4	60′	100	Erythem
H_2S	5	60′	100	
H_2S	6	60′	100	
CO	1	40′	ca. 14	
CO	2	1 h 30′	ca. 14	
Anilin	1	4 h	1,0 mg im l	
Anilin	2	4 h	0,9 mg im l	

2. Die Blausäure wird von der Haut unter folgenden Symptomen esorbiert:

a) Am Menschen (Exponierung des Armes bis zu 27 Minuten, Dosen bis zu 5,5 Vol.-%).

I. Kleinste hellrote Blutungen.
II. Nach Stunden auftretendes Unwohlsein, Kopfschmerz.
III. Hellrote Marmorierungen.

b) An Tieren (Exposition des Rumpfes und der Extremitäten, Dosen bis zu 2,0 Vol.-% Dauer bis 2 h 26 Min.). Blausäuretod unter den typischen Erscheinungen.

3. Der Schwefelwasserstoff wird von der Haut unter folgenden ymptomen resorbiert (nervöse Symptome fehlen):

a) Am Menschen (Exponierung des nackten Armes bis 60 Minuten, Dosen bis zu 100%).

I. Dunkelfärbung der Haut (FeS ?)
II. Flohstichartige Fleckchen — oft in großer Zahl.
III. Rote Marmorierungen.
IV. Nach Stunden auftretendes Erythem.

b) Am Meerschweinchen (Exposition des enthaarten Rumpfes, Dauer 60 Minuten konzentrierter Schwefelwasserstoff).
Erythem des ausgesetzten Teiles.

Benützte Literatur.

1. Vogel, Virchows Archiv 1899, Bd. 6 2. Schleyer, Ein Beitrag zur 'rage der Perspiration der Säugetiere. Dissertation Würzburg 1901/02. 3. Drecher, Über die Aufnahme von Kohlenoxyd und Blausäure durch die Haut.)issertation Würzburg 1920. 4. Gruber, Über den Nachweis und die Giftigeit des Kohlenoxyds und sein Vorkommen in Wohnräumen. Archiv für Hygiene, 3d. I. 5. Walton and Witherspoon: Journal. of Pharm. and exper. Ther. 926, 26, S. 315 ff.

Über die Wirkung der in den Frühstunden betriebenen sportlichen Körperarbeit auf die geistige Leistungsfähigkeit und das Wohlbefinden im Verlaufe des beruflichen Arbeitstages.

Von

T. Wohlfeil,

Assistent am Institut.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Königsberg. Stellvertretender Direktor: Prof. Dr. Hilgers.)

(Bei der Redaktion eingegangen am 17. Januar 1927.)

Die Einwirkung sportlicher Körperarbeit auf die geistige Leistungsfähigkeit ist, vor allem von der Schulhygiene in ihrer Bedeutung für die Verhältnisse im Schulbetrieb, erkannt und nach der psychologischen und medizinischen Seite hin erforscht worden. Hängt doch mit diesem Problem die Überbürdungsfrage aufs engste zusammen. Abgesehen von älteren Arbeiten[1]) berichtet Sippel[2]) nach umfangreichen Experimenten an Berliner Schülern, daß eine mäßig anstrengende, von einem erfahrenen Turnlehrer geleitete Turnstunde die geistige Leistungsfähigkeit der Schulkinder in den darauf folgenden Schulstunden nicht herabsetzt, sondern zum Teil noch fördern kann. Man würde, wie es aus den Protokollen Sippels hervorgeht, praktisch gar keine merkbare Ermüdung, die bei jenen Versuchen im einzelnen zu beobachten war, erzeugen, wenn der Turnlehrer die körperlichen Anforderungen der konstitutionellen Eigenart der Schüler entsprechend individuell dosieren könnte.

Eine Steigerung der geistigen Leistungsfähigkeit unmittelbar nach maximalen sportlichen Anstrengungen, wie es Flockenhaus[3]) behauptete, konnten Ewig und Wohlfeil[4]) nicht

---

1) Die spezielle Literatur siehe (außer in den Handbüchern der Schulhygiene: Selter, Handbuch der deutschen Schulhygiene 1914, S. 174—314, Burgerstein und Netolitzky, Weyls Handbuch der Hygiene 1912, Bd. VI, 1. Abt. S. 230—246, K. Süpfle in Rubners Handbuch der Hygiene Bd. IV, 1. Abt., S. 269—412) bei Meumann: Vorlesung zur Einführung in die experimentelle Pädagogik. . . Berlin 1914 und W. Ewig, T. Wohlfeil: Archiv für Hygiene 1926. Bd. 97. Psycholog. Beiträge zur Ermüdungsforschung bei maximalen körperlichen Anstrengungen I, II, III.

2) H. Sippel, Beiträge zur Turn- und Sportwissenschaft von C. Diem, Heft 5, 1923.

3) M. Flockenhaus, Medizinische Klinik 1923, Nr. 17.

4) W. Ewig, T. Wohlfeil, a. a. O.

bestätigen, vielmehr verschob sich die Ermüdungswirkung einer maximalen körperlichen Arbeit bei genauer Analyse auf quantitatives und motorisches Gebiet, d. h. dem der Arbeitsgeschwindigkeit. Das hatten schon in anderer Beziehung Untersuchungen aus der Kraepelinschen[1]) Schule ergeben.

Von besonderer hygienischer Bedeutung sind die Beziehungen zwischen der Tätigkeit im Beruf und sportlicher Tätigkeit. Die erholende und entmüdende Wirkung vernünftiger Leibesübungen ist bekannt. Aber eine berufsarbeithemmende nach größeren Anstrengungen längere Zeit nachwirkende Ermüdung, welche von Gegnern der modernen Turn-, Spiel- und Sportbewegung immer wieder hervorgehoben wird, läßt sich auf Grund der praktischen Erfahrung ebenfalls nicht leugnen. Soweit sich diese Ermüdung von einem Sportabend auf den folgenden Berufsarbeitstag auswirkt, fällt sie in das Gebiet der Hygiene des Trainingszustandes. Es wird aber von vielen Berufsangehörigen (studentischen Verbindungen, kaufmännischen Angestellten usw.) in den Sommermonaten auch in den frühen Morgenstunden vor der beruflichen Tätigkeit Sport getrieben, es wird sogar vielfach ein regelrechtes Training durchgeführt, dessen Wirkung bisher nicht weiter erforscht ist.

Die folgenden Untersuchungen haben die Erforschung jener Verhältnisse mit Rücksicht auf die Leistung im Beruf und auf die individuelle Hygiene zum Ziel. Die zur Untersuchung gekommenen Fragestellungen waren im einzelnen folgende: 1. Welche Ermüdungswirkung besitzen vor der Berufsarbeit betriebene zum Teil mit maximaler Anstrengung vor sich gehende sportliche Leibesübungen? 2. Welche Unterschiede ergeben sich dabei bezüglich der Wirkung von Dauerübungen und kurzdauernden maximalen Anstrengungen? 3. Was läßt sich unter diesen Umständen über das subjektive körperliche Wohlbefinden der Versuchspersonen aussagen?

Die Versuchsanordnung war derart, daß sich an einem Tage (1. Kontrolltag) die Versuchspersonen (= Vp.) fünfmal im Verlaufe des Arbeitstages zweier) Leistungsprüfungen unterziehen mußten An diesem Tage waren sie zur üblichen Zeit morgens aufgestanden. Am folgenden Tag (Sporttag) trieben die Vpn. in der Frühe zwischen 6 und 8 Uhr Sport. Im Anschluß daran traten sie ihren Dienst um 8,30 Uhr an, dann wurden wie oben angegeben zu 5 Zeiten (um 8,30, um 11, um 1, um 3, um 6 Uhr) je 2 Ermüdungsmessungen durchgeführt. Am 3. Tage (2. Kontrolltag) begann wieder die Berufsarbeit zur gewöhnlichen Zeit, ohne daß morgens eine körperliche Anstrengung vorausgegangen war. Als Versuchspersonen stellten sich für diese außerordentlich anstrengenden Versuche Vp. Dr. E., Oberarzt an der Medizinischen Universitätspoliklinik und Frau Dr. W. zu kürzeren Versuchsgruppen, Vp. L. Kr., Schülerin der Schule für technische Assistentinen des hiesigen Instituts und der Versuchsleiter selber (Vp. Dr. W.) zu ausgedehnteren Versuchen zur Verfügung. Aus der Fülle der Methoden zur Ermüdungsmessung wählte ich das schon früher erprobte modifizierte Bourdonsche Verfahren, dessen Beschreibung und Begründung in dieser Form in einer früheren Arbeit[2]) gegeben wurde. Mit wenigen Ausnahmen wurden bei der Leistungsprüfung zwei Stichproben hintereinander durchgeführt; eine Tagesversuchsreihe setzte sich aus 10 einzelnen Leistungsstichproben zusammen. Eine Versuchsgruppe umfaßte 3 Versuchstage, d. h. 1. Kontrolltag, Sporttag, 2. Kontrolltag. Die Vpn. mußte in jedem Einzelversuch in einem Text 200 sinnlose Silben aus-

---

1) K. Miesemer, in Kraepelin, Psychologische Studien Bd. 4, 1902, S. 384 und Bettmann ebenda, 1895, Bd. I.
2) W. Ewig, T. Wohlfeil, a. a. O.

streichen. Die Leistung berechnete sich nach der Formel $L = nR\%/rZ$, d. h. $nR\%$ = die Anzahl der richtig ausgestrichenen Buchstaben in %; rZ = die relative Arbeitsdauer. Die Anzahl der Buchstaben waren in der ersten Zeit zwischen 80 und 100 schwankend. Da sich aber herausstellte, daß trotz der Berechnung auf relative Zahlen mit einer größeren Anzahl der auszustreichenden Buchstaben eine geringfügige Verbesserung der Leistung eintrat, wurden Buchstabenkombinatoinen mit möglichst gleicher Buchstabenzahl verwandt. Die Vpn. waren in langdauernden Vorversuchsreihen an die Methodik gewöhnt und in der betreffenden Arbeit geübt. Als sportliche Arbeit hatte bei den Versuchen mit kurzdauernden maximalen Anstrengungen bei Vp. Dr. E. Rudern in einem Skulboot bei den übrigen 3 Vpn. Paddeln über die Rennstrecken von 500—3500 m gedient. Vp. Dr. W. trat bereits als trainiert an die Versuche heran. Bei den Versuchen über die Wirkung von Dauerübungen wurde an den Sporttagen vor Dienstbeginn ein Marsch, durchschnittlich 6—8 km in 1½ Stunden auf ebenem Gelände zurückgelegt. In beiden Versuchsgruppen wurden von Versuch zu Versuch die körperlichen Anforderungen stetig erhöht.

Die ersten Versuche mit Vp. Dr. E., im Sommer 1925, ergaben bei der relativ geringen Anzahl der Versuchsreihen kein eindeutiges Resultat. In einigen Versuchsgruppen war damals an den Tagen, an welchen die Vp. morgens angestrengt gerudert hatte, im Vergleich zu den Kontrolltagen ein Abfall der Leistung von Dienstbeginn bis Dienstschluß zu beobachten gewesen (die dienstliche Tätigkeit war eine poliklinische). In anderen Versuchsreihen — auf die tabellarische Darstellung dieser Vorversuche soll verzichtet werden — ließ sich jene Erscheinung nicht in dem Maße beobachten. Im folgenden Jahre (August 1926) angestellte Experimente (Vp. Frau Dr. W.) ergaben wieder an Sporttagen ein Absinken der relativen Leistung von morgens bis mittags gegenüber einem gewissen Anstieg am Kontrolltag. Die mittleren Tagesleistungen des Sporttages übertrafen jedoch merkwürdigerweise die des Kontrolltages.

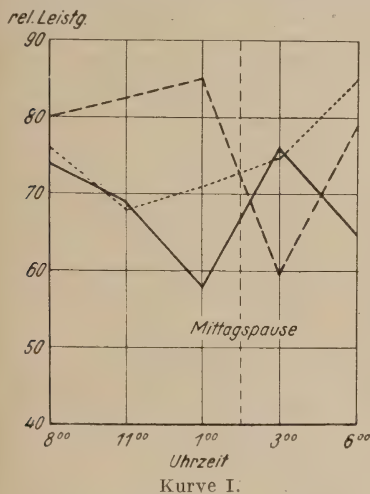
Bei Einhaltung annähernd gleicher Versuchsbedingungen lassen sich gerade im Gebiet der Ermüdungsmessung wie überhaupt der experimentellen Psychologie unvermeidliche Fehlerquellen nur nach dem Gesetz der großen Zahlen ausgleichen. In umfangreichen Experimenten wurden daher insbesondere an 2 Vpn. die außerordentlich anstrengenden Versuche über längere Zeit fortgeführt. Auf eine tabellarische Darstellung der Ergebnisse der einzelnen Versuchsreihen (Vp. Dr. W. 27 Versuchstage mit 204 Einzeltests, Vp. Kr. 24 Versuchstage mit 214 Einzeltests) muß aus Gründen der Raumbeschränkung verzichtet werden. Im folgenden werden daher nur die Mittelwerte aus mehreren Versuchsgruppen gebracht werden. Um extreme Schwankungen der Werte, die den am meisten wahrscheinlichen Sachverhalt überdecken können, auszuschalten, wurde nicht das arithmetische Mittel sondern das Stellungsmittel berechnet — ein in der Psychologie übliches Verfahren. — Als Maß diente dann nicht die mittlere Variation, sondern die sogenannten Mittelzonen, welche sich aus der Differenz der oberen und unteren Zentralwerte ergaben. Ist der Zentralwert ein Maß für die Höhe der Leistung, so können die Mittelzonen als ein solches für die Gleichmäßigkeit oder Ungleichmäßigkeit der Leistungen dienen. Je niedriger die Leistung wird, um so mehr dürfte eine Ermüdungswirkung existieren. Freilich muß man sich hier vor einer schematischen Bewertung der Gesamtleistung hüten. Es ist (Graf[1]) eine „naive Meinung, die glaubt, die Ermüdung müsse immer in einem Sinken der Arbeitskurve zum Ausdruck kommen, ebenso wenig wie immer eine Abnahme der Leistung eine Ermüdung bedeutet". Hier muß bei der Analyse des Sachverhaltes eine Berücksichtigung der Qualität und Arbeitsgeschwindigkeit einsetzen, wobei die Wirksamkeit der außer der Ermüdung

1) O. Graf, Arbeitspsychologische Untersuchungen; Kraepelin, Psychologische Arbeiten, Bd. 9, Heft 1.

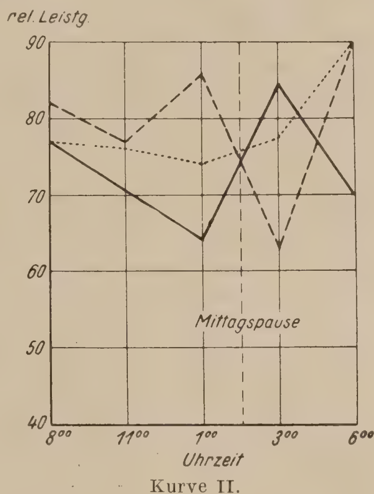
wirkenden Faktoren wie Antriebsfähigkeit, Übungsfähigkeit und Anregbarkeit zu erkennen ist. Weiterhin ist auch die Gleichmäßigkeit der Einzelleistungen, die von den oben genannten Faktoren abhängt, ein Maß der Ermüdung, wie wir sehen werden.

I. Die Wirkung von Dauerübungen.

Im folgenden sollen aus Gründen des leichteren Verständnisses erst die Ergebnisse der Untersuchung über die Einwirkung von Dauerübungen gezeigt werden, obgleich diese zeitlich erst in einem späteren Termin ausgeführt worden sind. Als erstes interessierte der Verlauf der Arbeitskurve, deren Sinken auf eine Ermüdung hinweisen konnte. Kurve I und II (Mittelwerte der Vpn. Kr. und Dr. W., gewonnen aus 4 Versuchsgruppen mit je 100 (Vp. Kr.) und 98 (Vp. Dr. W.) Einzelversuchen).



Kurve I.



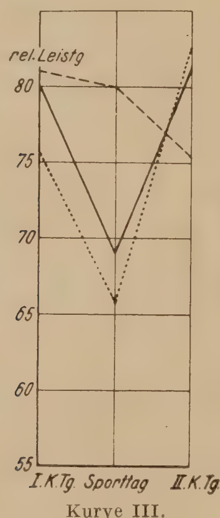
Kurve II.

Es bedeuten die punktierte Kurve = Verlaufe der Arbeitskurve des ersten Kontrolltages, die gestrichelte Kurve = die des zweiten Kontrolltages, die schwarze ausgezogene = die des Sporttages. Auf der Abszisse sind die Zeiten, an welchen die beiden Ermüdungsmessungsstichproben stattgefunden haben, auf der Ordinate die relativen Leistungen aufgetragen.

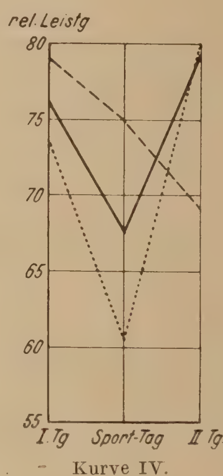
Wie die Kurven des Sporttages zeigen, tritt bei beiden Vpn. ein Abfallen der Leistungen von morgens bis mittags ein. Die Mittagspause scheint eine gewisse Erholung zu bedeuten, da die Leistung wieder höher steigt. Nach Dienstschluß um 6 Uhr nachmittags führt die Ermüdung wieder zu einem Absinken. Die Kurven der Kontrolltage ergeben neben der Tatsache, daß sie im allgemeinen etwas höher liegen, einen anderen Verlauf. Am ersten Kontrolltage v o r dem Tage der sportlichen Tätigkeit ist der Kurvenverlauf bis auf den Höhenunterschied der Leistungen ähnlich jener des Sporttages. Es bestehen jedoch zwei bemerkenswerte Unterschiede: Die Leistung ist um 6 Uhr am höchsten, um 3 Uhr verhältnismäßig niedrig, beides im Gegensatz zur Kurve des Sporttages. Beim zweiten Kontrolltag, d. h. dem Tage nach der sportlichen Tätigkeit findet noch ein gewisses Ansteigen der Vormittagsleistung, — eine Tatsache, die auch bei den andern Versuchs-

gruppen in den Kontrolltagen häufig beobachtet wurde — um 3 Uhr ein beträchtlicher Leistungsabfall, um 6 Uhr ein Anstieg statt. Zusammengefaßt ergibt sich, daß an den Sporttagen am Vormittag eine bis 1 Uhr beträchtlich ansteigende Ermüdung zu beobachten ist. Die Mittagspause brachte eine Erholungs, aber die geringe Leistung nach Dienstschluß besagt, daß die ermüdende Wirkung der morgendlichen Körpertätigkeit nicht geschwunden war. An den Kontrolltagen zeigt sich ein solcher außerhalb der Norm liegender Leistungsabfall auf Grund der Ermüdung keineswegs.

Vergleicht man nun die Gesamtleistungen der Kontrolltage mit denen des Sporttages, so zeigt sich an den Sporttagen eine beträchtliche Verringerung der Arbeitsleistung. Die Gesamtleistungen des zweiten Kontrolltages liegen etwas höher als die des ersten, was als Übungswirkung zu deuten ist.



Kurve III.



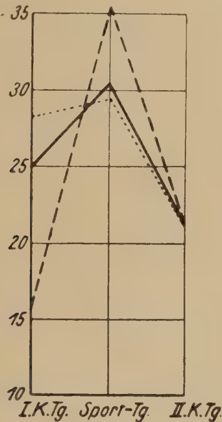
Kurve IV.

Es bedeuten die schwarze ausgezogene Kurve = mittlere Tagesleistungen, schwarz punktierte Kurve = die mittleren Leistungen am Vormittag, gestrichelte Kurve = die Nachmittagsleistung. Auf der Ordinate sind die relativen Leistungen eingetragen, auf der Abszisse die Gesamtleistung des ersten Kontrolltages des Sporttages und des zweiten Kontrolltages.

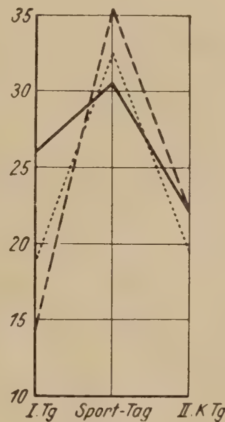
Betrachtet man bei weiterer Analyse Vormittags- und Nachmittagsleistungen gesondert, so ist die Vormittagsleistung — entsprechend dem Kurvenverlaufe der früher gezeigten Arbeitskurve — am Sporttag eine niedrigere, als an den Kontrolltagen. Bei der Nachmittagskurve ergibt sich aber die eigenartige Tatsache, daß am zweiten Kontrolltage ein weiterer Abfall zu beobachten gewesen ist. Da eine Ermüdung sich im Verlaufe eines Arbeitstages, wohl gerade in den letzten Dienststunden, d. h. denen

des Nachmittags bemerkbar machen wird, scheint diese Tatsache darauf hinzudeuten, das die ermüdende Wirkung der Körperarbeit an diesen Sporttagen sich bis auf den zweiten Kontrolltag ausdehnte.

Wie eingangs bemerkt, wurde auch die Streuung der Einzelleistungen um das Gesamtmittel — berechnet als Mittelzonen — festgestellt. Je geringer sich die Schwankungen zeigten, um so gleichmäßiger waren die Leistungen und bis zu einem gewissen Grade um so zuverlässiger arbeitete die Vp. Die folgenden Kurven V und VI beweisen bei einem Ansteigen der Mittelzone an den Sporttagen ein Ungleichmäßigerwerden und damit mit Einschränkung ein Unzuverlässigerwerden der Leistung. Der Wechsel von guten und schlechten Leistungen scheint im Ermüdungszustande ausgeprägter zu sein. Von den möglichen psychologischen Ursachen zeigte sich die Antriebsfähigkeit, d. h. die Tatsache, daß im Ermüdungszustande kurz dauernde Besserleistungen auf Grund von Willensimpulsen triebartigen Charakters zustandekommen, als die häufigste.



Kurve V.



Kurve VI.

Beim Vergleich dieser Streuungskurven (Kurve V und VI) mit den Leistungskurven (III und IV) imponiert das fast gegensätzliche Verhalten der Ausschläge zueinander. Vormittags- und Nachmittagswerte der Schwankungen (punktierte und gestrichelte Linie) sind in ihrem Verlaufen hier nicht merklich von den Gesamttagesschwankungen (schwarze Kurve) verschieden. Wenn man dies scheinbar gegensätzliche Verhalten auf Korrelation prüft, so zeigt sich bei den Werten der Kontrolltage ein Korrelationskoeffizient von — 0,427, d. h. es scheint schon hier ein solches gegensätzliches Verhalten in einem geringen Grade zu bestehen. Bezieht man den Sporttag in die Berechnung ein, so steigt der Korrelationskoeffizient auf — 0,94 (wahrscheinlicher Fehler 0,0032), ein Wert, welcher der vollkommenen umgekehrten Korrelation von — 1 nahe kommt. Beim späteren Vergleich der Werte der Versuchsgruppen mit kurzdauernder Körperanstrengung mit dem eben hier Genannten, wird die Bedeutung dieser Zahlen noch weiter erörtert werden.

Wie bei der Besprechung der Methodik gesagt wurde, bestand jede Ermüdungsmessung aus zwei einzelnen Stichproben. Wenn man nun die zweiten Leistungen mit den ersten vergleicht (Tabelle I), so war in 80 % der Fälle (bei beiden Vpn.) an den ersten Kontrolltagen bei der zweiten Stichprobe eine Verschlechterung der Leistung vorhanden.

Tabelle I.

	Vp. Dr. W. 2. Leistung		Vp. Kr. 2. Leistung	
	besser %	schlechter %	besser %	schlechter %
1. Kontrolltag .	20	80	20	80
Sporttag . . .	80	20	100	0
2. Kontrolltag .	20	80	40	60

An Sporttagen waren dagegen in 80 bis 100 % der Fälle die zweiten Leistungen besser. Der zweite Kontrolltag entsprach im allgemeinen in seinem Verhalten dem ersten. Bei der Erklärung des psychologischen Tatsachenbestandes wird man nicht fehl gehen, wenn man annimmt, daß normalerweise bei Beginn einer solchen relativen eintönigen Arbeit ein Anfangsantrieb die höhere Leistung erzwingt. Solche Antriebe fallen jedoch bei der zweiten Stichprobe weg, daher das Nachlassen in der Leistung. Im Ermüdungszustand (in den Sporttagen) ist der Anfangsantrieb durch die Ermüdung überdeckt. Erst bei der zweiten Stichprobe, nachdem auch vielleicht eine gewisse Anregung zu dieser geistigen Arbeit stattfand, führt ein starker Willensimpuls — wie er in der Selbstbeobachtung geschildert wurde — der sogenannte Wechselantrieb (nach der Kraepelinschen Terminologie) zu einer relativen Besserleistung.

Betrachtet man weiter in der folgenden Tabelle II Arbeitsqualität und relative Arbeitszeit, so ist an Sporttagen gegenüber Kontrolltagen im Mittel keine außerhalb der Fehlergrenzen liegende Änderung der Arbeitsqualität zu beobachten.

Tabelle II.

	Vp. Dr. W. Qualität $nR\%$		Vp. Dr. W. Arbeitszeit r. Z.		Vp. Kra. Qualität $nR\%$		Vp. Kra. Arbeitszeit r. Z.	
	Z	MZ	Z	MZ	Z	MZ	Z	MZ
1. Kontrollgang . .	91,7	8,4	1,2	0,455	95,97	5,03	1,235	0,365
Sporttag	91,15	8,2	1,325	0,58	96,05	4,7	1,3	0,58
2. Kontrollgang . .	90,45	3,3	1,17	0,39	96,45	4,5	1,215	0,345

Es bedeuten in der Tabelle II: Z = Zentralwerte; MZ = Mittelzonen; $nR\%$ = Anzahl der richtig ausgestrichenen Buchstaben in %, d. h. Qualität der Arbeit; r.Z. = relative Arbeitszeit.

Dagegen benötigen die Vpn. an Sporttagen zur Probearbeit merklich mehr Zeit, d. h. die relative Arbeitsgeschwindigkeit läßt nach. Die größere Ungleichmäßigkeit der relativen Arbeitszeiten an den Sporttagen zeigt andererseits die sich auf motorischem Gebiet auswirkende Ermüdung. Bei

etrachtung der Art der früher gezeigten Leistungsverminderung ergibt ei annähernd gleicher Qualität vornehmlich eine Beeinträchtigung der rbeitsgeschwindigkeit. Von den möglichen Arten einer Leistungsverninderung, die in einer früheren Arbeit [1]) als virtuelle und reelle, d. h. cheinbare und tatsächliche bezeichnet worden sind, trifft hier eher die einer eellen Leistungsverminderung zu.

Aus diesen Versuchen erhellt die Tatsache, daß anstrengende morgendiche Körperarbeit in Form von Dauerübungen die geistige Leistungsähigkeit im Tagverlauf nicht unwesentlich beeinträchtigt. Die Ermüdungsymptome waren vor der Mittagspause und abends vor Dienstschluß am eutlichsten. Neben einer reellen Leistungsverminderung, objektiv nacheisbar, war subjektiv an den Sporttagen das Bewußtsein der Müdigkeit voranden. Die Arbeiten gingen zwar in der üblichen Weise vonstatten, aber s bedurfte stärkerer Willensspannung, um sie zu leisten. Entsprechend em objektiven Befund war die Müdigkeit mittags sehr groß, abends aber n Kontrast zur tatsächlichen Leistung relativ gering. Diese Tatsache eist auch hier wieder darauf hin, daß das subjektive Fehlen einer Müdigeit keineswegs das Vorhandensein einer objektiven Ermüdung ausschließt. ie Parallele zwischen Müdigkeit und objektiver Ermüdung sind wie schon ehr oder weniger bekannt, nur in sehr schweren objektiven Ermüdungsuständen vorhanden. Bei mittleren Graden besteht also die Gefahr, auf rund des Fehlens eines Müdigkeitsbewußtseins, sich in einen schwer ausleichbaren Zustand der Übermüdung hinein zu arbeiten.

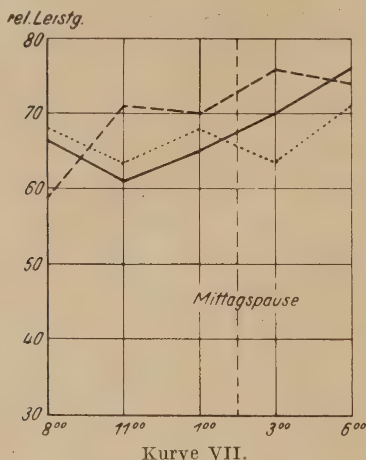
II. Die Wirkung von relativ kurzdauernden maximalen Anstrengungen.

In weiteren Versuchsgruppen, die zeitlich vor den früher genannten tattfanden, und die des systematischen Aufbaus wegen erst hier gebracht erden, wurde die Wirkung kurz dauernder maximaler Anstrengungen um Gegenstand der Untersuchung gemacht. Außer an den Vorversuchen ienten hier Rennpaddeln (in Wanderkajaks) über kürzere Strecken, 500 m, 000 m, und 3500 m als relativ kurzdauernde, maximal anstrengende örperarbeit, Übungen, die als „Schnelligkeitsübungen" gewertet werden onnten. Die körperliche Anstrengung war derart, daß Vpn. im allgeeinen mindestens einmal über den sogenannten toten Punkt hinwegamen. Die Anzahl der Versuchsreihen betrug bei Vp. Dr. W. 102, bei Vp. ra. 114, die der Versuchstage 14 und 12.

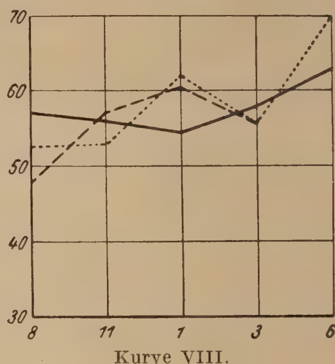
Der Verlauf der Tagesarbeitskurve war bei diesen Versuchen keinesegs für eine schwere Ermüdung sprechend, wie bei den früher genannten. n Kurve VII und VIII zeigt sich in den Vormittagsstunden bei Vp. Kr. nur in Abfall der Leistung von morgens bis 11 Uhr vormittags, bei Vp. Dr. W. llerdings ebenfalls, wie in den anderen Versuchen bis 1 Uhr. Dann erfolgt ber in den Nachmittagsstunden ein stetiges Steigen der Leistungen bis Uhr, parallel den Kontrollversuchen und im Gegensatz zu dem Kurvenerlauf der ersten Versuchsgruppen (siehe Kurve I und II). Schon hieraus eht hervor, wie es im folgenden gezeigt werden kann, daß derartige kurz

1) W. Ewig, T. Wohlfeil, a. a. O., III.

dauernde Anstrengungen nicht annähernd jene Ermüdungswirkung besitzen, wie länger dauernde Körperarbeit. Objektiv nachweisbar ist die Ermüdung nur im Vormittag. Nachmittags ist sie bereits gewichen. Kon-

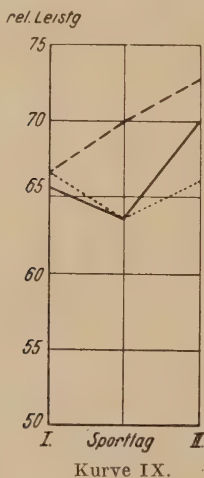


Kurve VII.

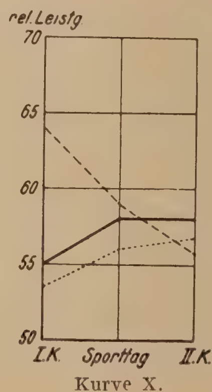


Kurve VIII.

trolltage und Sporttag sind in ihrem Arbeitskurvenverlauf nicht außerordentlich verschieden. Betrachtet man das Verhalten der mittleren Tagesleistung am Kontrolltag und Sporttag (Kurve IX und X), so findet man bei



Kurve IX.



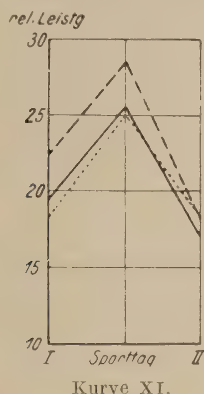
Kurve X.

Vp. Kr. eine ganz geringe Verminderung, bei Vp. Dr. W. sogar eine Steigerung der Gesamtleistung. Diese Verminderung bei Vp. Kr. ist aber nur eine solche von 3% gegenüber einer Verminderung bei den früher mitgeteilten Versuchen mit Dauerübungen von 14,5% (siehe Kurve I).

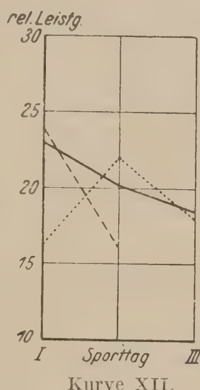
Bei Vp. Kr. zeigt die Nachmittagskurve keine Senkung am Sporttag und zweiten Kontrolltag, was nach dem früher Gesagten ebenfalls auf eine

·lativ geringe Ermüdung schließen läßt. Der Abfall der Leistungen bei p. Dr. W. ist als innerhalb der Fehlergrenzen zu betrachten, da nur zwei ersuchsreihen stattgefunden hatten.

Die mittleren Schwankungen um das Gesamtmittel als Ausdruck der Gleichmäßigkeit", mit gewisser Einschränkung: „Zuverlässigkeit der rbeit" weisen bei Vp. Kr. wieder ein gegensätzliches Verhalten gegenüber ·m Kurvenverlauf der mittleren Leistungen auf. (Kurve XI.) Vor Dr. W. ·igt diese Regel nicht (Kurve XII).



Kurve XI.



Kurve XII.

Das Verhalten der bisher gezeigten Kurven von Vp. Dr. W. machte ihrem etwas anderen Verhalten gegenüber Vp. Kr. die Annahme einer ainingsmitwirkung sehr wahrscheinlich. Ein speziell trainierter Organis-ıs weist, wie es ja schon bekannt ist, (Haeseler, Richter) eine geringere ·müdbarkeit auf als ein ungeübter.

Untersucht man das gegensätzliche Verhalten von Gleichmäßigkeit d Höhe der Leistung auf Korrelation, so ergibt sich an den Kontroll-gen bereits ein negativer Korrelationkoeffizient von — 0,717, d. h. schon rmalerweise geht bis zu einem gewissen Grade höhere Leistung mit ößerer Ungleichmäßigkeit einher. Wird wieder der Sporttag in Berech-ng eingezogen, so sinkt der negative Korrelationkoeffizient auf — 0,348.

Tabelle III.

gensätzliche Beziehungen zwischen Höhe der mittleren Leistung und Ungleichmäßigkeit derselben.

	Kontrolltage und Sporttage mit großer Ermüdungswirkung	Kontrolltage allein	Kontrolltage und Sporttage mit geringer Ermüdungswirkung	Kontrolltage allein
Korrelations-·ffizient. : .	— 0,94	— 0,427	— 0,348	— 0,717
Wahrscheinl. ıler.	0,0032	0,275	0,22	0,135

Die Größe der negativen Korrelation ist somit umgekehrt bis zu einem vissen Grade ein Anzeiger für die Stärke der Ermüdung wie Tabelle III ·ehmen läßt.

Bezüglich der weiteren zahlenmäßigen Werte ist unter Verzicht au ihre tabellarische Darstellung zu sagen: Ohne bestimmtes System wechselte an Kontroll- und Sporttagen Erhöhung und Erniedrigung der Werte de zwei Stichproben miteinander ab. Es bestanden überall Anfangsantriebe Anregbarkeit und Wechselantriebe nebeneinander. Bezüglich der Art de Leistungsverminderung (Vp. Kr.) und Leistungsvermehrung (Vp. Dr. W. ist zu bemerken, daß es stets nur virtuelle, d. h. scheinbare Verbesserunge bzw. Verschlechterungen waren; Arbeitsqualität und Geschwindigke gingen nicht einander parallel.

Das subjektive Wohlbefinden der Vpn. war an diesen Sporttagen mi kurzen Hochleistungen nicht in dem Maße wie in den Versuchstagen mi Dauerübungen beeinträchtigt. Immerhin bestand in den ersten Versuchs tagen eine gewisse Müdigkeit, die in den weiteren Versuchstagen schne abnahm.

Zusammenfassung.

Im allgemeinen betrachtet, haben die Versuche gezeigt, daß körpe liche Anstrengungen von kürzerer Dauer objektiv keine beträchtliche Schä digung der geistigen Leistungsfähigkeit in den folgenden Arbeitsstunde hervorzurufen imstande sind. Die Einwirkungen stehen in Beziehung zu Geübtheit der Vp. in derartigen Leibesübungen und sind abhängig von de Dauer und Wiederholungszahl derselben. Eine einmalige maximal Körperarbeit morgens, etwa ein 100 m-Lauf und ähnliches wird b mindestens nicht gänzlich ungeübten Personen keine längerdauernde E müdungswirkung besitzen.

Längerdauernde Anstrengungen, seien es auch nu solcher geringerer Intensität, wirken dagegen außerordentlich ermüden Morgens auf dem Sportplatz auch nur auf einen 1500 m- oder 5000 m-Lau hin zu trainieren, ist von diesem Gesichtspunkt aus zu verwerfen. D geistigen Leistungen im Beruf werden vermindert sein. Auch sind der wege eventuellen Nachwirkung der Ermüdung Gesundheitsschädigungen in besondere auf nervösem Gebiet nicht ausgeschlossen.

Arbeiten über die basophile Substanz in den jugendlichen roten Blutkörperchen.

II.

Über die physikalisch-chemischen Eigenschaften der basophilen Substanz in den jugendlichen Erythrocyten.

Von

Dr. med. **H. Brückner.**

(Aus dem gewerbehygienischen Laboratorium des Reichsgesundheitsamts.)

(Bei der Redaktion eingegangen am 3. Februar 1927.)

Soweit wir die Literatur überblicken, sind Versuche über die physikalisch-chemischen Eigenschaften der basophilen Substanz in den jugendlichen roten Blutkörperchen vom Standpunkt der Dispersoidchemie noch nicht in genügendem Maße unternommen worden. Ob es bei dem heutigen Stande unserer Kenntnis schon möglich ist, die basophile Substanz chemisch einwandfrei zu identifizieren, mag hier zunächst außer Betracht bleiben[1]). Jedenfalls unterliegt die basophile Substanz, wenn wir sie als Nichtkristalloid aufzufassen haben, den Gesetzen der Dispersoidchemie und im engeren Sinne den Gesetzmäßigkeiten, wie sie stark solvatisierten Körpern zukommen. Von diesen Gesichtspunkten ausgehend, haben wir das Verhalten der basophilen Substanz gegenüber physikalisch-chemischen Veränderungen ihres Milieus untersucht. Es war von vornherein klar, daß die kolloidchemischen Eigenschaften der basophilen Substanz und ihre Veränderungen, wenn man sich vor großen Irrtümern schützen wollte, nur im Nativzustand verfolgt werden konnten, also unter ähnlichen Bedingungen, wie sie im lebenden Organismus und im kreisenden Blute gegeben sind. Selbstverständlich ist ein derartiges Vorgehen nicht ganz ideal durchzuführen, weil schon das Austreten des Bluttropfens aus der Blutbahn qualitativ und quantitativ unübersehbare Veränderungen bedingt, Wir wissen aus der Kolloidchemie, daß die Eiweißkörper auf physikalische Veränderungen ihrer Umgebung sehr stark ansprechen, weshalb ihr Austreten aus der Blutbahn in die wechselnden Bedingungen der Atmosphäre nicht gleichgültig sein kann. Wenn wir beispielsweise ein Protein nicht in naturlös-

1) Von manchen Autoren wird sie zu den Eiweißsubstanzen oder deren Abbauprodukten, von anderen zu den Lipoiden gerechnet (Dietrich-Pappenheim).

licher Form vor uns haben, sondern aus dem Zustande der Koagulation bzw. der Gallerte in den gelösten Zustand überführen müssen, so erhalten wir ein von der früheren Lösung total verschiedenes System des Proteins (1). Die elektrischen Äquivalentleitfähigkeiten, das kataphoretische Wanderungsvermögen, überhaupt der ganze Habitus haben sich so bedeutend geändert, daß man eine andere Substanz vermuten könnte. So nimmt beispielsweise das native Hühnereiweiß nach dem Ausflocken und nach dem Zurückversetzen in den Solzustand Eigenschaften an, die qualitativ, ganz besonders aber quantitativ sehr different sind von den ursprünglichen Eigenschaften im Nativzustand. Alle Manipulationen, welche an den Blutkörperchen nach dem Austreten aus der Blutbahn vorgenommen werden, sind gegenüber der Feinheit ihrer Reaktionsweise unter biologischen Bedingungen so grob, daß wir von vornherein darauf verzichtet haben, am lufttrockenen Präparat zu arbeiten.

Biologische Untersuchungen an Kolloiden, welche auf die Erforschung der physikalisch-chemischen Eigenschaft dieser Substanzen im lebenden Organismus gerichtet sind, müssen möglichst nahe am Nativzustand des biologischen Materials vorgenommen werden. Das Heraustretenlassen der roten Blutkörperchen an die freie Atmosphäre war zunächst und im Sinne unserer Untersuchungen unumgänglich. Selbstverständlich kann man kolloidchemische Reaktionen unter geeigneten Bedingungen auch in der Blutbahn selbst zur Ausführung bringen. Ehe wir aber derartige subtile Methoden anwenden wollten, schien es uns zweckmäßig, das Verhalten der basophilen Substanz noch im feuchten, also wenig veränderten Zustand zu studieren. Voraussetzung für die Weiterbehandlung feuchter, nativer Blutausstriche ist möglichst rasches Arbeiten, so daß vor den zu unternehmenden Manipulationen und Reaktionen kein einziges Blutkörperchen ausgeflockt ist.

I. Das Verhalten der basophilen Substanz im feuchten Blutausstrich („Nativzustand") gegenüber osmotisch wirkenden chemischen Agentien.

Die nachfolgend beschriebenen Versuche wurden ausschließlich an „bleikrankem" Meerschweinchenblut ausgeführt, so daß alle daraus gezogenen Schlußfolgerungen streng genommen nur für Meerschweinchen Gültigkeit haben. Versuche an anderen Tiergattungen und am Menschen sind im Gang.

1. Das Verhalten der basophilen Substanz im „Nativzustand" gegenüber wasserentziehenden Mitteln wie Alkohole usw. (Fixierungsmittel).

Zum Zwecke der Weiterbehandlung des nach den gewöhnlichen Methoden ausgestrichenen Blutpräparates wird der feuchte Ausstrich sofort in das zu untersuchende Fixierungsmittel gebracht (Supravitalfixierung). Infolge der Erschütterung der Blutschicht an der Oberfläche der Flüssigkeiten, sowie infolge der plötzlichen Wasserentziehung entstehen an den Präparaten Spalten und Risse, die den Ausstrich gelegentlich recht unansehnlich machen können. Nach einer Fixierungsdauer von Sekunden bi

Minuten wird das Präparat aus der fixierenden Flüssigkeit entfernt, an der Luft getrocknet und nach den gewöhnlichen Methoden mit basischen Farbstoffen, wie Methylenblau oder Azur gefärbt. Im miskroskopischen Bilde zeigt sich dann eine eigenartige Deformierung aller Zellen des Präparates; die Blutkörperchen erscheinen entsprechend der Eintauchrichtung in die Länge gezogen und verschmälert. Neben dieser Formveränderung zeigt sich eine Verkleinerung (Schrumpfung) der Erythrocyten um etwa die Hälfte gegenüber den gewöhnlichen, lufttrockenen und fixierten Präparaten. Diese Veränderungen werden bei der Einwirkung aller wasserentziehenden organischen Substanzen in verschiedenem Grade beobachtet. Untersucht wurden von uns die Einwirkung von Methylalkohol, Äthylalkohol, Butyl- und Allylalkohol, Azeton, Äther und einige Ester der niederen Reihe. Die mit basophiler Substanz begabten Erythrocyten[1]) stellen sich in ganz besonderer Weise dar: die Art ihrer Deformierung entspricht durchaus den Veränderungen, wie wir sie an den Orthochromaten geschildert haben. Sie erscheinen um die Hälfte kleiner, in derselben Weise wie die Orthochromaten deformiert, und erweisen sich durchweg als ausgesprochene Polychromaten, während die entsprechenden Kontrollpräparate[2]) eine große Zahl von basophil punktierten Erythrocyten neben vielen Polychromaten aufweisen. In manchen Präparaten, besonders in den mit Äther oder mit anderen sehr stark wasserentziehenden Fixierungsmitteln behandelten Blutausstrichen zeigen die blaugefärbten, also mit basophiler Substanz begabten Erythrocyten eine besondere Form; die ganze Zelle erscheint stark geschrumpft, während die basophile Substanz in Form eines ausgezackten Knäuels in der Mitte der Zelle zusammengeballt angeordnet ist. Die durch Vitalfixierung in Methylalkohol entstehenden Formen weichen wenig von den gewöhnlichen Formen der Polychromaten ab; sie sind zwar kleiner und meist intensiv blau gefärbt, zeigen aber durchaus diffuse Anordnung und keine Spur von Granulation. Auch diejenigen Formen (Knäuelform), welche unter der Einwirkung sehr stark wasserentziehender Fixierungsmittel entstehen, zeigen keine Verwandtschaft mit Granulationen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungsreihe schienen uns deshalb nicht unwichtig, weil wir damit die Möglichkeit in der Hand hatten, die mit basophiler Substanz begabten Erythrocyten, welche im gewöhnlichen Lufttrockenapparat als eine Zweiheit von Polychromaten und basophil punktierten Erythrocyten auftreten, unter der Form der Polychromasie zur Darstellung zu bringen.

2. Das Verhalten der basophilen Substanz im „Nativ“zustand gegenüber Osmiumsäuredämpfen.

Die infolge ihrer deformierenden und schrumpfenden Wirkung störenden Einflüsse von flüssigen Fixierungsmitteln auf das feuchte Präparat

1) Mit basophiler Substanz begabte Erythrocyten: Alle Erythrocyten, welche basophile Substanz in irgendeiner Form enthalten (Polychromasie, basophile Punktierung, vitalgranuläre Form), werden im folgenden mit „basophile Erythrocyten“ bezeichnet.

2) Kontrollpräparate: Das gewöhnliche lufttrockene, mit Methylalkohol fixierte und mit 0,05 proz. wässeriger Azur II-Lösung gefärbte Präparat.

veranlaßten uns (neben anderen Gedankengängen), die Fixierung des Nativpräparates mit Osmiumsäuredämpfen vorzunehmen. Wir benutzten dabei eine von Weidenreich angegebene Methode[1]). Die Einwirkungsdauer der Osmiumsäuredämpfe in der feuchten Kammer bis zur Vollendung der Fixierung beträgt ca. 20 Sekunden (Zimmertemperatur). Bei 10 Sekunden Einwirkungsdauer sind die Präparate noch nicht genügend fixiert; bei mehr als 30 Sekunden resultiert ein etwas verschwommenes Bild und Überfärbung. Nach der Fixierung werden die Präparate an der Luft getrocknet und mit einer der bekannten basischen Farbstofflösungen gefärbt.

Die mit basophiler Substanz begabten Erythrocyten erscheinen unter der Einwirkung der Osmiumsäuredämpfe bei gewöhnlicher Temperatur ausnahmslos in der Form der Granulation, während die entsprechenden Kontrollpräparate eine große Zahl von Polychromaten und basophil punktierten Erythrocyten aufweisen. Die Form der Granulation ist vollkommen regelmäßig; die Granula unterscheiden sich in ihrer Größe kaum merklich voneinander und die wohlgestalteten Zellen erscheinen ganz gleichmäßig damit angefüllt. Der basophile Inhalt mancher dieser Zellen hat Ähnlichkeit mit der Form der sogenannten Substantia-granulo-filamentosa (Vitalgranuläre Form nach Naegeli).

3. Das Verhalten der basophilen Substanz im „Nativ“zustand gegenüber trockenen Farbstoffpulvern.

Zur Verfolgung der Einwirkung trockener Farbstoffpulver auf das feuchte „Nativ“präparat schien uns eine von V. Schilling (2) abgeänderte Methode von Pappenheim besonders geeignet. Bei dieser Methode wird der Objektträger zunächst mit einer Schicht 1 proz. alkoholischer Brillantkresyllösung durch Ausstreichen eines Tropfens der Lösung gleichmäßig bedeckt, so daß nach dem Verdunsten des Alkohols eine hauchartige Lage von trockenem Brillantkresylpulver auf dem Objektträger liegen bleibt. Auf dem so vorbehandelten Objektträger wird ein Bluttropfen nach der gewöhnlichen Weise ausgestrichen und das Präparat sofort in die feuchte Kammer gebracht (Wasserdampfatmosphäre bei Zimmertemperatur Die Temperatur darf nicht allzu sehr schwanken, damit keine Kondensation des Wasserdampfes eintritt. Nach etwa 5 Minuten der Einwirkung wird der Blutausstrich in der gewöhnlichen Weise luftgetrocknet und in Methylalkohol fixiert, wobei das Präparat so vollkommen entfärbt wird, daß im mikroskopischen Bilde die basophile Substanz nicht mehr erkannt werden kann. Nach der Verdunstung des Methylalkohols wird dann das Präparat mit einer der bekannten Farbstofflösungen (Methylenblau, Azur) nachgefärbt. Im mikroskopischen Bilde weisen jetzt die mit basophiler Substanz begabten Erythrocyten die vitalgra-

1) Zitiert nach Naegeli, Blutkrankheiten und Blutdiagnostik. Verlag Julius Springer, Berlin, 1923. Die gereinigten Objektträger werden für einige Minuten in eine feuchte Kammer (Petri-Schale, deren Deckel und Boden mit Filtrierpapier ausgelegt ist) gebracht, welche einige Kubikzentimeter einer 1 proz. wässerigen Osmiumlösung enthält. Dann Ausstreichen des Bluttropfens auf der den Dämpfen ausgesetzten Seite des Objektträgers, den man jetzt für 20 Sekunden wieder in die Schale zurückbringt und den Dämpfen zur Fixation aussetzt.

nuläre Form[1]) auf, währen ddie entsprechenden Kontrollpräparate eine große Zahl von Polychromaten und basophil punktierten Erythrocyten enthalten. Da uns die Entfärbung des mit Brillantkresyl vorgefärbten Präparates und die dadurch notwendig gewordene Nachfärbung des nun denaturierten Präparates aus theoretischen Gründen[2]) nicht zweckmäßig erschien, so änderten wir die Methode im folgenden Sinne ab: Nach Einwirkung der Wasserdampfatmosphäre in der feuchten Kammer kommt das Präparat sofort für 20 Sekunden in die feuchte Osmiumkammer und von hier zur Entfernung des überschüssigen Brillantkresyls für kurze Zeit n destilliertes Wasser. Der Vorteil der Methode besteht darin, daß man unter Vermeidung der Nachfärbung eine echte, native Brillantkresylfärbung erzielt. Im mikroskopischen Bilde erscheinen bei unserer nativen Brillantkresyl-Osmiummethode die basophilen Zellen in der vitalgranulären Form; die Färbung liefert äußerst kontrastreiche, differenzierte Bilder. Die entsprechenden Kontrollpräparate weisen Polychromaten und basophil punktierte Erythrocyten auf.

Aus diesen Versuchen geht zunächst hervor, daß die basophile Substanz äußerst reaktionsfähig ist, sobald man sie nur in einem Zustand weiterbehandelt, in welchem ihre ursprünglichen biologischen Eigenschaften noch vorhanden sind: im Nativzustand. In diesem Zustand gelingt es, durch ganz einfache Manipulationen die Substanz in jede gewünschte Erscheinungsform zu bringen. Durch plötzliche energische Wasserentziehung mittels der gewöhnlichen Fixierungsmittel kann man die mit basophiler Substanz begabten Zellen in die Erscheinungsform der „Polychromasie" überführen, während sowohl Osmiumsäuredämpfe als auch trockene Farbstoffpulver den basophilen Zellinhalt unter der Form der „Granulation" zur Darstellung bringen. Polychromasie, basophile Punktierung und basische Netzstruktur (oder besser vitalgranuläre Form der basophilen Substanz) sind somit nur verschiedene Erscheinungsformen der gleichen Grundsubstanz. Zu denselben Resultaten kam V. Schilling (3), nachdem es ihm im Reagenzglasversuch gelungen war, Polychromasie mittels bestimmter Konzentrationen von Kalilauge und Kochsalzlösungen in basophile Punktierung umzuwandeln. Tatsache ist allerdings, daß wir die Substanz selbst chemisch noch nicht identifizieren können.

Die chemisch-physikalischen Vorgänge, welche die verschiedenen typischen Erscheinungsformen bedingen, verlaufen nach den allgemeinen Gesetzen der Kolloidchemie. Die beobachtete Labilität der basophilen Substanz, die Variabilität ihrer Erscheinungsformen bei Abänderung der Reaktionsbedingungen berechtigen uns zu der Annahme, daß die basophile Substanz in der ursprünglichen, unberührten Zelle des kreisenden Blutes in hochdispersem, solvatisiertem Zustand vorhanden und gleichmäßig

1) Vitalgranuläre Form (Naegeli) als typische Erscheinungsform der basophilen Substanz bei Verwendung von Vitalfärbungsmethoden, mit der basischen Netzstruktur von Schilling nicht ganz gleichzusetzen.

2) Geringere quantitative Leistung der Methode infolge der dabei notwendig werdenden Nachfärbung.

im Zellinnern verteilt ist. Die Sichtbarmachung der Substanz durc
Farbstoffe gelingt, wie es scheint, nur unter Veränderung ihrer native
Kolloidstruktur, wobei eine Ausflockung des Kolloids vorangeht (Fixierung
oder die Ausflockung durch den Farbstoff selbst bewirkt wird (Brillant
kresylblauvitalfärbung). *Die Art der Koagulation und da*
mit die jeweilige Erscheinungsform der baso
philen Substanz ist abhängig von der Art de
Flockungsmittels und im weitesten Sinne von de
Methodik.

Die Alkohole verursachen unter den von uns angewandten Bedir
gungen eine feinkörnige diffuse Ausflockung, so daß bei den gewöhnliche
Vergrößerungen des Mikroskops (400- und 600fach) ausschließlich das Bil
der „Polychromasie“ in Erscheinung tritt. Die diffuse feinkörnige Koagu
lation scheint also durch plötzliche energische Wasserentziehung zu ent
stehen. Daß in der Tat eine erhebliche Wasserentziehung stattgefunden hat
beweist die Schrumpfung aller Zellen einschließlich der Orthochromaten
Starke und plötzliche Wasserentziehung im feuchten Nativpräparat mach
also diffuse Koagulation: Polychromasie unter starker Beteiligung osmo
tischer und anderer kolloidchemischer Vorgänge.

Im Gegensatz hierzu macht die Osmiumsäure im feuchten Nativ
präparat eine ausgesprochene regelmäßige und über die ganze Zelle gleich
mäßig verteilte Granulation von typischer Form. Schrumpfung der Zelle
ist bei diesem Vorgang nicht zu beobachten. Eher scheint im geringen Maß
Quellung aufzutreten. Man hat deutlich den Eindruck, als wäre die Granu
lation auch räumlich gleichmäßig in der Zelle verteilt (stereoskopisch
Untersuchung des mikroskopischen Bildes), eine Beobachtung, die für ein
gleichmäßige Verteilung der basophilen Substanz im nativen Zustand i
der ursprünglichen und unberührten jugendlichen Zelle des kreisende
Blutes spricht. Die physikalisch-chemischen Vorgänge, welche dies
charakteristische Granulationsform bedingen (Osmose, Fettlöslichkeit de
Osmiumsäure, Ionenwirkung), bedürfen einer weiteren Klärung.

Eine ebenso typische, aber andere Erscheinungsform der basophile
Substanz wird durch trockene Farbstoffpulver, die an die feuchte Zell
gelangen, hervorgerufen: die vitalgranuläre Form. Das trockene Farb
stoffpulver löst sich an den Oberflächen der feuchten Zellen, diffundier
je nach der Durchlässigkeit der „Zellmembran“ in das Innere des Blut
körperchens und verbindet sich — wiederum unter der Erscheinung der Aus
flockung — mit der ursprünglich diffus verteilten basophilen Substanz. Ein
Erklärung, weshalb bei diesem Reaktionsmechanismus die basophile Sub
stanz in der vitalgranulären Form sich darstellt, können wir nicht geben
Wir müssen eben den allgemein gültigen Satz, daß das Flockungsmitte
für den Zustand des Koagulats in hohem Maße verantwortlich ist, zur Er
klärung heranziehen, ohne den Mechanismus dieses Vorganges genauer zu
kennen. Man kann zwar nicht alle Arten der Ausflockung auf die gleich
Grunderscheinung zurückführen; es läßt sich aber doch soviel sagen, da
die Ausflockung sowohl bei der polychromaten als auch bei der granuläre
Erscheinungsform irgendwie auf physikalisch-chemische Vorgänge zurück
zuführen ist. Weitere Einzelheiten müssen speziellen Untersuchunge

hemischer und kolloidchemischer Art überlassen bleiben, weil diese Dinge ffenbar sehr komplexer Natur sind. Jedenfalls steht fest, daß wir im euchten Nativpräparat die polychromatische oder granuläre Form der asophilen Substanz nach Belieben hervorrufen können. Es gibt theoreisch höchstwahrscheinlich noch eine ganze Reihe anderer Flockungsformen ler basophilen Substanz, je nach dem zur Anwendung kommenden Koaulationsmittel: saure, alkalische oder neutrale Elektrolyte oder lipoidösliche, chemisch indifferente Substanzen. Es handelt sich hier um ganz llgemein gültige Gesetzmäßigkeiten.

I. Das Verhalten der basophilen Substanz im „Nativ"zustand gegenüber Veränderungen rein physikalischer Art (Temperaturveränderungen).

Während bei den bisherigen Versuchen die native basophile Substanz nittels chemischer Agentien zur Ausflockung gebracht wurde, schien s uns zweckmäßig, das Verhalten der basophilen Substanz gegenüber 'emperaturveränderungen zu untersuchen. Zu diesem Zwecke wurde das Blut auf vorgewärmten Objektträgern ausgestrichen. Wir verfuhren dabei o, daß wir den Objektträger im Trockenschrank auf eine bestimmte Temeratur erwärmten, zur Anfertigung des Blutausstriches kurz herausahmen und das fertige Präparat sofort wieder in den Trockenschrank zuücklegten. Die nachfolgend angegebenen Temperaturen bedeuten also ur Annäherungswerte. Wir verfolgten die Wirkung der Temperatureränderung in dem Bereich von ca. 100° bis ca. 4°. Bei den höheren Temeraturen war ein ganz plötzliches Entweichen des Wassers in Dampfform chon während des Ausstreichens zu beobachten, so daß die Präparate sofort ls lufttrocken bezeichnet werden konnten. Sämtliche, unter der Einwirung verschiedener Temperaturen stehenden Präparate wurden nach der ufttrocknung in Methylalkohol fixiert und mit Azur II gefärbt. Bei der nikroskopischen Untersuchung ergab sich folgendes Resultat: In dem Beeich von 100° bis 60° trat nur eine Form der Koagulation der basophilen ubstanz auf: die Polychromasie, keine einzige punkierte Zelle. In diesem Bereich zeigte das mikroskopische Bild einige esonderheiten. Die Orthochromaten waren zum Teil sehr stark gechrumpft, so daß sie stellenweise als recht kleine Scheibchen erschienen. m Gegensatz dazu waren die Polychromaten auffallend groß und ließen eilweise ganz feine Netzformen erkennen.

In dem Bereich von 60° bis 40° fanden sich mit abfallender Temperatur anz vereinzelt basophil punktierte Erythrocyten neben vielen Polyhromaten im Präparat. Eine Deformierung der Zellen im Sinne der chrumpfung war nicht mehr nachzuweisen.

Bei der Temperatur von 30° fanden sich neben vielen Polychromaten twa 5 bis 7, bei 25° etwa 8 bis 10 basophil punktierte Erythrocyten pro esichtsfeld.

Bei der Temperatur von 4° war die Zahl der basophil punktierten rythrocyten schließlich auf etwa 15 pro Gesichtsfeld angestiegen neben ielen Polychromaten.

Bei Wiederholung dieser Versuchsreihe ergab sich immer wieder daselbe Resultat.

Aus den Ergebnissen dieser Versuche ist zu schließen, daß die Einwirkung höherer Temperaturen auf die basophile Substanz infolge plötzlicher Wasserentziehung die Flockungsform der feinkörnigen diffusen Polychromasie hervorruft. Diese Erscheinung geht durchaus parallel mit der plötzlichen Wasserentziehung durch gewöhnliche Fixierungsmittel, wenn sie auf das feuchte Nativpräparat einwirken; auch dort entsteht ausschließlich Polychromasie. Unter dem Einfluß fallender Temperaturen tritt dann mehr und mehr die Granulation nebem der Polychromasie auf. Aus diesen Tatsachen dürfen wir den Schluß ziehen, *daß die jeweilige Erscheinungsform der basophilen Substanz bei der gewöhnlichen Art der Fixierungs- und Färbemethoden durch die Austrocknung an der Luft* zustande kommt. Die spezifische Form der Ausflockung ist die Polychromasie und die basophile Punktierung. Die basophile Substanz muß im kreisenden Blut und auch im feuchten Ausstrichpräparat offenbar im solvatisierten Zustand vorhanden sein bei ganz gleichmäßiger Verteilung in der Zelle, so daß in allen Teilen des Rauminnern annähernd die gleiche Konzentration von basophiler Substanz besteht. Je nach den zufälligen Temperaturen und dem zufälligen Feuchtigkeitsgehalt der Luft wird die basophile Substanz vorwiegend als Polychromat oder als basophile Punktierung in Erscheinung treten. Der Zustand und die Form des Koagulats ist im wesentlichen abhängig von der Geschwindigkeit, mit welcher die Wasserverdunstung aus der Zelle erfolgt. Es kommt dabei auch auf die Lage der basophilen Zellen an. Während die in der Mitte gelegenen basophilen Zellen infolge langsamerer Verdunstung ihres Wassers mehr zu Granulationen werden, zeigen die am Rande gelegenen mehr den Charakter von Polychromaten. Sehr dünne Ausstriche liefern aus dem gleichen Grunde mehr Polychromaten als dicke Präparate unter gleichen Bedingungen der Temperatur und des Feuchtigkeitsgehaltes der Luft. (verschiedene Bedingungen bezüglich der Wasserverdunstung).

Das Verhältnis der Zahl der Polychromaten zur Zahl der basophil punktierten Erythrocyten ist eine Funktion der Temperatur und des Feuchtigkeitsgehaltes der Atmosphäre. Mit der Bleivergiftung steht die basophile Granulation nur insofern im Zusammenhang, als sie in ihrer Eigenschaft als jugendliche Zelle ein Zeichen des Reizzustandes des Knochenmarks bedeutet. Mit der Zahl der jugendlichen Zellen steigt auch die Zahl der basophil punktierten Erythrocyten; dies aber nur deswegen, weil die Möglichkeit und die Wahrscheinlichkeit ihres Auftretens mit der Zahl der jugendlichen Zellen ganz allgemein wächst. *Die Lufttrocknung von Blutpräparaten erscheint als ein Spezialfall der Koagulation der basophilen Substanz.*

Die Frage nach den Eigenschaften und nach der Bewertung der basophilen Substanz haben wir bewußt vom Standpunkt der physikalischen Chemie betrachtet unter scheinbarer Zurücksetzung der rein biologischen Seite des Problems. Mit zahlreichen Autoren, besonders mit Askanazy (Genf), Pappenheim und V. Schilling treten wir für die Ansicht ein, daß der

asophilen Substanz, gleichgültig in welcher Form sie auftritt, oder besser ı welcher Form sie durch unsere Methoden zur Darstellung gebracht wird, in einheitlicher, chemisch definierbarer Körper (Körpergruppe) zugrunde egt. Diese Anschauung beruht allerdings auf Rückschlüssen, denen der tzte Beweis, die Identifizierung mittels exakter chemischer Methoden och fehlt. Askanazy ist der Ansicht, daß die basophile Substanz bzw. deren 'orstufen (amphotere Reaktion? Verschiebung der Wasserstoffionen-onzentration?) in allen jugendlichen Erythrocyten sowie in allen jugend-chen Bindegewebzellen in irgendeiner Form vorhanden sei, und daß sie urch einen biologischen Aktivierungsprozeß diejenigen Eigenschaften lange, welche das Farbbindungsvermögen (an welchem wir die basophile ubstanz erkennen), ausmache[1]).

Das Wesentliche in unserer Auffassung ist die Vorstellung, daß die asophile Substanz im kreisenden Blut im hochdispersen solvatisierten ustand vorhanden und daß sie gleichmäßig im Protoplasma der Zelle ver-ilt ist. Wir schließen das aus ihrer hohen Reaktionsfähigkeit und ihrer roßen Labilität. Vom solvatisierten Zustand aus kann man die Substanz jeder Form ausflocken; das Auftreten der verschiedenen Erscheinungs-rmen läßt sich auf diese Weise zwanglos erklären. Jede Methode und de Variation einer bestimmten Methode bringt andere Erscheinungs-rmen. In diesem Sinne sind alle im mikroskopischen Bilde sichtbaren ormen der basophilen Substanz ausnahmslos als Kunstformen zu betrach-n. Ein Widerspruch zu dieser Auffassung scheint die Tatsache, daß die asophile Substanz im Dunkelfeld nur in Verbindung mit einem Farbstoff irperlich in Erscheinung tritt, während das durch Fixierungsmittel oder ırch Lufttrocknung erhaltene Koagulationsprodukt für sich allein im unkelfeld nicht erkennbar ist. Das ist aber kein stichhaltiger Einwurf gen unsere Anschauung, weil ein negativer Dunkelfeldbefund nichts weist.

Eine weitere neuartige Auffassung ist die Vorstellung, daß die jeweilige scheinungsform der basophilen Substanz bei der gewöhnlichen Art der xierungs- und Färbemethode (Alkoholfixierung der lufttrockenen Prä-rate) durch die Ausflockung an der Luft zustande kommt, daß somit das rhältnis der Zahl der polychromaten zur Zahl der basophil punktierten ythrocyten eine Funktion der Verdunstungsgeschwindigkeit des Wassers s den jugendlichen Erythrocyten ist. Hierfür glauben wir den Beweis bracht zu haben, ohne dabei über den feineren Reaktionsvorgang an der sophilen Substanz selbst etwas auszusagen. Die Frage, weshalb bei der ıfttrocknung die basophile Substanz in der bekannten Zweiheit von lychromasie und basophiler Punktierung auftritt, läßt sich bis zu einem wissen Grade beantworten. Jeder Erythrocyt ist ein Individuum für h mit seinem nur ihm zukommenden biologischen Eigenschaften. Alter, ifezustand, Quellungszustand, Quellungsdruck, Verhältnis von fester bstanz zu Wasser etc. V. Schilling (3) und Naegeli (4) isen auf diese Dinge hin, besonders bei pathologischen Zuständen: Resi-nz der Erythrocyten, Pachydermie, Hydraemie. Nach unseren Unter-

1) Mündliche Mitteilung.

suchungen bildet sich die jeweilige Form der basophilen Substanz (Lufttrockenmethoden) im wesentlichen während der kurzen Zeit vom Ausstreichen bis zur Vertrocknung, ein Prozeß, der in ca. $^1/_4$ bis 2 Minuten beendet ist. Die weitere Wasserentziehung durch die Fixierung in Alkoholen variiert das Verhältnis von Polychromasie und basophiler Punktierung noch etwas. Diejenigen basophilen Zellen, welche auf Grund ihrer biologischen Eigenschaften sehr schnell ihr Wasser abgeben, werden dabei wahrscheinlich zu Polychromaten (plötzliche Wasserentziehung), während die anderen, die „Pachydermen" bzw. diejenigen, welche aus irgendwelchen Gründen ihr Wasser schlecht abgeben, zu punktierten Erythrocyten werden. Bei der Vitalfärbung dagegen (Brillantkresylmethode, vitale Osmiumsäurefixierung), wobei starke osmotische Kräfte die Zellen im Nativzustand (Sol) angreifen, verschwindet dieser biologische Unterschied, so daß alle Zellen unter der Form der Granulation zur Darstellung gelangen. Jeder Erythrocyt hat seine eigenen Reaktionsbedingungen; Zwischenstufen von polychromatischer zu granulärer Erscheinungsfor im sind dabei selbstverständlich.

Es erhebt sich so die Frage, ob wir den biologischen Unterschied von Erythrocyt zu Erythrocyt als spezifisch und typisch bezeichnen dürfen derart, daß wir die echte basophile Punktierung des Lufttrockenpräparates klinisch als etwas Besonderes, etwas Pathologisches von den übrigen Formen der basophilen Substanz abtrennen dürfen im Sinne einer durch degenerativen Einfluß geschädigten Regeneration.

Wenn die Anschauung, daß die basophile Substanz im kreisenden Blut nie anders als hochdispers und solvatisiert vorhanden ist, zurecht besteht, so kann man die basophile Punktierung von den anderen Erscheinungsformen der basophilen Substanz nicht abtrennen. Dann besitzt eben jede Zelle, welche basophile Substanz enthält, den Wert einer jugendlichen (vielleicht in unbekannter Weise aktivierten) Zelle. Dafür spricht sowohl das Vorkommen basophiler Erythrocyten bei allen gesunden Menschen (eigene Untersuchungen) und bei vielen Tiergattungen. Dafür spricht weiter ihr vermehrtes Vorkommen bei Genuß von Blutwurst und bei der Einnahme von Haemoglobinpräparaten sowie von Eisen. Wenn wir die Zweiheit des Auftretens der basophilen Substanz bei gesunden Menschen und Tieren, also bei physiologischen Zuständen, immer und immer wieder finden, so kann die spezielle biologische Eigenschaft der Erythrocyten, welche basophile Punktierung verursacht und bedingt, nichts Spezifisches Krankhaftes sein. Wenigstens läßt sich hierfür zurzeit kein absolut sicherer Beweis erbringen. Polychromasie und basophile Punktierung sind im Sinne dieser Gedankengänge völlig gleichzusetzen. Die Tatsache, daß bei starker regenerativer Tätigkeit des Knochenmarks die Punktierung häufig gröber ausfällt als bei ganz physiologischen Zuständen, kann nicht als Gegenbeweis gelten; es sind dies nur quantitative Unterschiede[1]).

---

1) Möglicherweise handelt es sich hier — ähnlich der Kernverschiebung nach links (stabkernige Leukocyten) bei der neukrophilen Granulocytenreihe — um jüngere Entwicklungsstadien der Erythrocyten oder um sehr stark aktivierte Zellen.

Zwecks weiterer Fundierung unserer Hypothesen sind allerdings noch irekte Beweise dafür zu erbringen, ob die basophile Substanz in der Tat ı der kreisenden Blutzelle stest im hochdispersen solvatisierten Zustand orhanden ist. Untersuchungen in dieser Richtung sind im Gang.

I. Die Theorien der karyogenen und plasmogenen Abstammung der basophilen Substanz.

Unsere Untersuchungen haben gelehrt, daß die jeweilige Erscheinungsorm der basophilen Substanz in hohem Maße von der Methodik (Flokungsmittel, physikalische Bedingungen) abhängig ist. Theoretisch sind ir mit Hilfe verschiedener Flockungsmittel, deren Mechanismus durchıs nicht auf eine einheitliche Grunderscheinung zurückzuführen ist, in er Lage, alle Koagulationsformen zu bewirken: Von der feinsten diffusen, ıbmikroskopischen Ausflockung bis zu der Größe der Granula, wie wir e beim Vitalpräparat zu sehen gewohnt sind. Daß hier nicht selten wischenstufen vorkommen, namentlich bei der langsamen und ungleichäßigen Ausflockung durch die Lufttrocknung, welche eine einheitliche harakterisierung, ob Polychromasie oder Granulation, nicht mehr zulassen, t ganz selbstverständlich. Es ist daher auch unmöglich, aus den variablen rscheinungsformen der basophilen Substanz unter dem Einfluß von oagulationsmitteln anders Rückschlüsse zu ziehen, als derartige chemischıysikalische Reaktionen überhaupt zulassen. Ob man unter Vorraustzung dieser Tatsachen die Abstammung der basophilen Substanz vom ern oder vom Zellplasma auf einfache Weise beweisen und erklären kann, scheint uns fraglich. Es ist möglich, daß die basophile Substanz vom Kern ostammt, aber es ist nicht wohl möglich, ihre Abstammung aus den zufälligen rscheinungsformen der koagulierten basophilen Substanz zu erschließen. Venn die basophile Substanz wirklich vom Kern abstammt, so kann das ır auf dem Wege einer Autosolvatisierung des Kernes in ganz frühen ıgendstadien denkbar sein. Gegen diese Annahme sprechen sowohl die rbeiten von Schilling (3) über die Entkernung der roten Blutörperchen als auch die Tatsache, daß in Normoblasten, deren Plasma basoıile Substanz enthält, der Kern meist intakt ist, während die basophile ıbstanz in Form der Polychromasie oder der Granulation sich um den Kern erum gruppiert. Freilich wäre immer noch eine langsame, an der Periıerie des Kernes auftretende Autosolvatisierung denkbar, deren Produkte ch dann gleichmäßig im Zellplasma im Solzustand verteilen. Die Aninger der Kerntheorie, so besonders W. Koch (5) sprechen aber von ner Karyorexis derart, daß als primärer Auflösungsprozeß des Kernes e Granulation auftreten soll, der dann eine weitere Solvatisierung der ranula nachfolgt, so daß als Endzustand die diffus verteilte basophile ıbstanz in der jugendlichen Zelle vorhanden wäre. Gegen diese Hypothese richt aber die Tatsache, daß wir in der Lage sind, mit ganz einfachen anipulationen jeden beliebigen Koagulationszustand der basophilen ıbstanz zu erzeugen. Daher ist die Beweisführung der Abstammung der ısophilen Substanz von dem Kern auf Grund der zufälligen Erscheinungsrmen im lufttrockenen Präparate nicht ganz stichhaltig. Daß sich unter n vielen Fällen von Koagulationsformen im lufttrockenen Präparat auch

solche Normoblasten vorfinden, bei welchen die Granula dem Kern zu fällig anliegen und so den Eindruck erwecken, als ob sie gewissermaßen au ihm herauswüchsen, ist richtig, aber auch nicht verwunderlich.

Demgegenüber scheint uns die Abstammung der basophilen Substan aus dem Protoplasma viel größere Wahrscheinlichkeit zu besitzen. Wenn die basophile Substanz aller jugendlichen Zellen, auch die basophile Sub stanz der Normoblasten, in jeder beliebigen Erscheinungsform, zur Dar stellung gebracht werden kann, so ist nicht die Granulation, sondern di Polychromasie bzw. deren Vorstadien (wahrscheinlich der Solzustand) al primäre bzw. native Erscheinungsform vorauszusetzen. Auf welche Weis dieser Körper, den wir basophile Substanz nennen, in das Protoplasma de Zelle hineinkommt, das ist eine Frage, die zurzeit mit Sicherheit nicht z beantworten ist. Es läßt sich nur soviel sagen, daß sie bereits in den aller frühesten Embryonalzellen massenhaft enthalten ist.

Zusammenfassung.

Die basophile Substanz im ,,Nativ"zustand (feuchter Blutausstrich ist ein äußerst reaktionsfähiger labiler Körper im Kolloidzustand. Durc ganz einfache Manipulationen gelingt es, die Substanz in jeder beliebige Erscheinungsform zur Darstellung zu bringen.

Durch plötzliche energische Wasserentziehung mit Hilfe der gewöhn lichen Fixierungsmittel (Alkohole) kann man die mit basophiler Substan begabten Erythrocyten in den Flockungszustand der ,,Polychromasie" überführen, während sowohl Osmiumsäuredämpfe als auch trockene Farb stoffpulver die basophilen Zellen unter der Form der Granulation zur Dar stellung bringen.

Die Einwirkung höherer Temperaturen (60° bis 100°) auf die basophil Substanz im ,,Nativ"zustand ruft infolge plötzlicher Wasserentziehun ausschließlich die Flockungsform der ,,Polychromasie" hervor. Unter den Einfluß fallender Temperaturen (50° bis 4°) tritt dann mehr und mehr di Granulation neben der Polychromasie in Erscheinung. Die jeweilige Er scheinungsform der basophilen Substanz bei der gewöhnlichen Art de Fixierungs- und Färbemethoden (Alkoholfixierung der lufttrockenen Blut ausstriche) kommt durch die *Austrocknung an der Luft* zu stande. Das Verhältnis der Zahl der Polychromaten zur Zahl der basophi punktierten Erythrocyten ist eine *Funktion der Temperatu und des Feuchtigkeitsgehaltes der Atmosphär bzw. der Verdunstungsgeschwindigkeit des Was sers aus den Zellen.*

Polychromasie, basophile Punktierung und vitalgranuläre Form de basophilen Substanz sind verschiedene Erscheinungsformen der gleiche Grundsubstanz.

Im kreisenden Blut oder im Knochenmark (Nativzustand) ist di basophile Substanz höchstwahrscheinlich im solvatisierten Zustand im Zellplasma vorhanden und gleichmäßig im Protoplasma verteilt. Die im mikroskopischen Bilde sichtbaren Erscheinungsformen der basophilen Sub stanz sind *ausschließlich Kunstprodukte.*

Aus diesen „zufälligen“ Erscheinungsformen läßt sich die Abstammung er basophilen Substanz vom Kern (Theorien der Kernabstammung) nicht eweisen. In welchem Stadium der Entwicklung die basophile Substanz ı das Protoplasma hineinkommt, ist eine Frage, die zurzeit nicht zu bentworten ist. Sicher ist nur, daß sie bereits in den allerfrühesten Emryonalzellen massenhaft vorkommt.

Literatur.

1. A. Fodor: Die Grundlagen der Dispersoidchemie. Verlag Theodor Steinkopff, Dresden und Leipzig 1925.
2. Victor Schilling: Das Blutbild und seine klinische Verwertung. Verlag G. Fischer, Jena 1926.
3. Victor Schilling: Arbeiten über die Erythrocyten I—VII. Folia haematologica, Archiv, Bd. 11 und 14, 1911 und 1912.
4. Naegeli: Blutkrankheiten und Blutdiagnostik. Verlag Julius Springer, Berlin 1923.
5. W. Koch: Basophile Körnelung und Entkernung der roten Blutkörperchen bei Bleivergiftungen. Virchows Archiv 1924, Bd. 252.
6. Brückner und Spatz: Über die Beurteilung des roten Blutbildes bei der Bleivergiftung unter Berücksichtigung verschiedener Darstellungsmethoden der Polychromaten und basophil punktierten Erythrocyten. Archiv für Hygiene 1926, Bd. 97, S. 277. (Dort die besondere Methodik.)

Klinisch-experimentelle Untersuchung über die Diphtherie

Von

Professor **Franz Hamburger** und Dr. **Max Haidvogl.**

(Aus dem Hygienischen Institut und der Kinderklinik der Universität Gra

(Bei der Redaktion eingegangen am 4. Februar 1927.)

I. Ansteckung.

Über die Ansteckung bei der Diphtherie können wir ebensowe absolut Sicheres sagen wie bei so vielen anderen Infektionskrankheit Wir können nur von verschiedenen Möglichkeiten sprechen und kön allerdings auch Schlüsse ziehen, welche freilich nur Wahrscheinli keitsschlüsse, aber doch immerhin so sind, daß wir von größter Wa scheinlichkeit sprechen können; und da erscheint uns doch, daß das Me für die unmittelbare Tröpfchenansteckung spricht. Daß die mittelb Ansteckung durch Gegenstände aller Art möglich ist, kann bei der gro Tenazität des D. B. nicht bezweifelt werden. Daß sie tatsächlich größerer praktischer Bedeutung ist, erscheint uns aber nicht sehr wa scheinlich, da die außerordentliche Häufigkeit von gesunden Bazil trägern geradezu zur Annahme zwingt, daß die unmittelbare A steckung von Mensch zu Mensch als häufigste Ansteckungsform zusehen ist. Diese Ansteckung von Mensch zu Mensch kann nun erst einmal durch Schmierinfektion erklärt werden, in der Weise, daß Bazillenträger gelegentlich von seinen Schleimhäuten D. B. auf die Fi bekommt und einem anderen Menschen entweder unmittelbar in Mund oder auf die Finger bringt, von wo der Betreffende die Baz selbst in den Mund führt. Es wäre dies also eine echte Schmieransteck Diese kann selbstverständlich nicht ausgeschlossen werden; um so m wird man wieder an diese Möglichkeit denken, als aus Untersuchu von Strauß hervorgehen soll, daß D. B. in den Mundtröpfchen von zillenträgern nicht zu finden seien, (wenn er sie auch in der Mundschl haut selbst bei bestehender Tonsillen-Diphtherie gelegentlich, d. h 2 Fällen von 8 nachweisen konnte. Untersuchungen auf unserer Kl die von Jellenigg und später von Haidvogl[2]) durchgeführt worden s haben freilich nur selten, aber doch gelegentlich D. B. in Tröpfchen, zwar in Mundtröpfchen ergeben.

---

1) Die Arbeit ist mit Unterstützung des Commonwealth Fund New ausgeführt.

2) Nicht veröffentlicht.

Gelegentlich von systematischen Untersuchungen über die Tröpfchen-
erstreuung bei tuberkulösen Kindern fand Jellenigg in einem Mund-
öpfchen einer 15jährigen Patientin D. B. wie in Reinkultur. 8 Tage vor
iesem Funde hatte die bakteriologische Serienuntersuchung der Rachen-
ostriche aller im Zimmer befindlichen Personen (einschließlich Ärzte und
flegerinnen) ergeben, daß von 16 Personen 6 Bazillenträger waren, dar-
nter auch die erwähnte Patientin. Zur Zeit des Bazillenfundes in Tröpf-
ien waren von 13 Personen 8 Bazillenträger. 6 Tage darauf wurde das
ädchen entlassen. 4 Tage später ergab die bakteriologische Untersuchung,
aß von 15 Patienten nur mehr 5 Bazillenträger waren. Nach weiteren
Tagen (= 12 Tage nach Entlassung der Patientin) war von 16 Personen
eine mehr Bazillenträger. Zu einer klinischen Erkrankung kam es weder
i der in Rede stehenden Patientin noch bei einem Mitpatienten.

Angeregt durch den Befund Jelleniggs haben wir bei einigen
indern und einer an Di. erkrankten Pflegerin Tröpfchenstudien gemacht,
id zwar mittels des „Hustenspiegels".[1]) 2 dieser Kinder hatten eine
inische Di., 2 waren Bazillenträger. Eine große Schwierigkeit bestand
rin, die Kinder zum Husten zu bringen.

Der Befund war bei all diesen Kindern derselbe. Auf den einzelnen
ojektträgern fanden sich reichlich Tröpfchen in der Größe von 60 bis
0 Mikren, und zwar Mund- und Bronchialtröpfchen. In den Mund-
öpfchen fanden sich wie gewöhnlich wenig Leukozyten, sie bestanden
t nur aus Epithelien und Schleim. Die Bronchialtröpfchen enthielten
oisch reichlich Leukozyten.

Die Färbung der Objektträger erfolgte bei den ersten Versuchen mit
fflerschem Methylenblau, später mittels Neisserfärbung, um die D. B.
chter zu erkennen.

In keinem dieser Fälle konnten D. B. nachgewiesen werden; es fanden
h in den Tröpfchen zwar Stäbchen, die aber durch ihre Form und durch
n Mangel an Polkörperchen nicht für D. B. in Betracht kamen.

Bei der an einer mittelschweren Di. erkrankten Pflegeschülerin war
Untersuchung bedeutend erleichtert, da spontan Hustenstöße erfolgten.
fanden sich nun auf 3 Objektträgern in mehreren Mundtröpfchen ver-
zelt neben anderen Stäbchen schlanke, geschwungene Stäbchen mit
itlichen Polkörperchen; in einem Mundtröpfchen waren 3 D. B. in
m eines Dreiecks angeordnet; außerdem war an ein Bronchialtröpfchen
D. B. angelagert, so daß man den Eindruck hatte, als ob der Bazillus
dem Bronchialtröpfchen mitgerissen worden wäre.

Bei 2 Nasen-Di.-Fällen wurden wiederholt mit Hilfe eines Objekt-
gerspiegels Nieströpfchen aufgefangen und auf D. B. untersucht. Die

---

1) Latschenko hat Objektträger in Kopfhöhe der zu untersuchenden
son in verschiedener Entfernung ausgelegt und auf Tröpfchen untersucht.
terson hat einen Spiegel, auf dem 3 Deckgläschen befestigt waren, dem
tenden vorgehalten. Ziesche hat 12 Objektträger in einen passenden Blech-
nen gespannt und dann die einzelnen Objektträger untersucht. An unserer
ik werden Objektträger mittels Heftplaster auf Pappendeckel derart be-
gt, daß eine möglichst große freie Oberfläche entsteht und dieser „Objekt-
erspiegel" wird dem Hustenden vorgehalten. Größere Kinder halten beim
ten statt der Hand den Spiegel vor.

Kinder wurden durch Niespulver, das in die Nase eingeblasen wurd zum Niesen gereizt. Tröpfchen in der Größe von 50 bis 100 Mikren fand sich massenhaft, vereinzelt waren auch größere Tröpfchen zu sehen. Die Tröpfchen zeichneten sich durch ihren geringen Gehalt an zelligen Bestan teilen und durch spärliche Flora aus, D. B. konnten nicht gefunden werde Der oberwähnte Mangel an zelligen Bestandteilen und Flora ließ u daran denken, daß die die Schleimhaut überziehende Membran ein Au husten bzw. Ausniesen von zelligen Bestandteilen und Bakterien ve hindere.

Der Befund bei der obenerwähnten Pflegeschülerin ist deshalb b merkenswert, weil gerade durch eine Pflegerin die Bazillen leicht a Kinder übertragen werden können. Vielleicht ist der Mißerfolg bei d Kindern darauf zurückzuführen, daß die Kinder zum Husten gezwung werden mußten und daß dieser erzwungene Husten nicht denselben Erfo hat als der spontane Husten. Damit stimmt die Beobachtung Siegls g überein, der auch Tuberkelbazillen fast nie bei erzwungenem, sonde nur bei spontanem Husten in Tröpfchen fand.

Wenn wir bedenken, daß wir bei Di.-Kranken oft keine D. B. find konnten, verhältnismäßig häufig jedoch bei D. B.-Trägern, so möcht wir beinahe zur Meinung kommen, daß D. B. vielleicht häufiger in Mur und Nasentröpfchen von gesunden D. B.-Trägern als von wirklich Krank vorgefunden werden können. Wir haben in dieser Richtung jedoch sell noch keine systematischen Versuche angestellt.

Bei vorsichtiger Abschätzung aller uns bekannten Beobachtung besonders in Erwägung unserer eigenen unmittelbaren Beobachtung müssen wir zugeben, daß eine Schmierinfektion nicht ausgeschlossen i daß aber die Wahrscheinlichkeit für die größere Häufigkeit der unmitt baren Tröpfchenansteckung spricht.

Vielfach wurde behauptet, daß die gesunden D. B.-Träger nur der Umgebung von Di.-Kranken zu finden seien (Scheller, Kob Tjaden u. a.). Diese Meinung können wir auf Grund ausgedehn Untersuchungen nicht teilen. Von vornherein spricht schon die gro Häufigkeit der gesunden D. B.-Träger im Gegensatz zur großen Selt heit der Di.-Krankheit in Graz gegen diese Anschauung, aber auch unmittelbare Untersuchung steht damit in Widerspruch. Wir haben einer ganzen Anzahl von Fällen versucht, von den gesunden D. B.-Träg den Weg zu einem Di.-Kranken zu finden. Das ist uns aber nie gelung d. h. unter den vielen gesunden D. B.-Trägern haben wir außer bei Ärz und Pflegerinnen niemals solche gefunden, welche mit Di.-Kranken in rührung waren, dagegen war oft das Umgekehrte möglich, d. h. sol gesunde D. B.-Träger haben oft Di.-Krankheit verursacht, eine altbekan Tatsache.

Wir verweisen übrigens auf die folgende lehrreiche Beobachtung Di.-Erkrankung auf unserer Freiluftstation im Anschluß an das Erschei einer neuen D. B.-tragenden Pflegeschwester.

Auf der Freiluftstation waren von 17 Kindern und 6 Erwachsenen am 14. 1924 2 Kinder, am 17. 12. 1 Kind mäßig reichlich positiv.

Am 9. und 16. 1. 1925 konnte bei niemandem Diphtheriebazillen nach wiesen werden.

Am 19. 1. wird Frl. K. als neue Pflegeschülerin aufgenommen und bevor ie der Freiluftabteilung zugeteilt wurde, auf D. B. untersucht. Das Ergebnis ler Untersuchung war positiv. Eine Reinzüchtung des Stammes gelang nicht, vegen der die D. B. überwuchernden Sporenbildner und Kokken. Im Nasen-Rachenraum war kein pathologischer Befund nachzuweisen. Nach ihrer Angabe var die Pflegeschülerin mit Diphtheriekranken nicht in Berührung gekommen.

Die am 22. 1. vorgenommene Untersuchung der Freiluftstation ergab, daß rl. K. und S. Anton (20 Monat alt) Bazillen beherbergten.

Am 29. 1. war Frl. K., K. Johanna (3 J.), Sch. Maria (20 Mon.) und J. Grete 1 J.) spärlich positiv, K. Erna (7 J.) und Frau H. (Wärterin) fraglich. Bei K. ohanna (Skrophulose!) war ein diphtherieverdächtiger Nasenausfluß vorhanden.

Am 30. 1. erkrankte K. Erna an einer Angina mit gelblichen Belägen an den onsillen, wobei im Originalausstrich vereinzelt typische D. B. (Neisserfärbung), ulturell nur Pseudo-D. B. nachgewiesen werden konnten. Das Kind war in venigen Tagen ohne Serum geheilt.

Am 3. 2. verläßt Frl. K. die Abteilung.

Am 5. 2. waren bei der Gesamtuntersuchung der Dachstation K. Erna und . Herta (12 J.) und S. Hans vereinzelt positiv. Auch fanden sich bei letzterem ı der Kultur einer vereiternden Impfpustel reichlich D. B.

Am 9. 2. erkrankte plötzlich J. Anna (13 J.) unter hohem Fieber an Rachen- nd Gaumen-Di. kulturell fast Reinkultur von D. B.

Am 13. 2. waren bei der Gesamtuntersuchung nur Sch. Maria und F. Franz 10 J.) vereinzelt positiv.

Vom 15. auf den 16. 2. erkrankte das Kind C. Rudolf (3 J.) an einer klinischen onsillen-Di.; kulturell wurden D. B. nachgewiesen. J. Anna und C. Rudolf aren vor der Erkrankung immer bazillenfrei.

Sowohl das Kind K. Erna als auch J. Anna und C. Rudolf waren am 14. 1. chickpositiv. Alle anderen gesund gebliebenen Kinder waren schicknegativ, is auf Sch. Maria, die durch längere Zeit Bazillenträgerin war, aber klinisch icht erkrankt war. Primarius Dr. Krassnig konnte trotz genauer Unter-ıchung des Nasen-Rachenraumes nichts auf Diphtherie Verdächtiges feststellen.

Am 17. 2. waren noch von 22 Kindern bei 3, und zwar A. Alfred (2½ J.), . Johanna und Sch. Maria D. B. nachweislich.

Am 24. 2. war der Befund der Sch. unsicher (echte oder Pseudo-Di.?).

Am 26. 2. A. Alfred reichlich positiv.

Am 28. 2. A. Alfred positiv, J. Margarete, Sch. Maria fraglich.

Am 4. 3. A. Alfred positiv.

7. 3. A. Alfred positiv, L. Roman fraglich.

Am 10., 15. und 20. 3. hatten die Gesamtuntersuchungen (Kinder, Er-achsene) ein negatives Ergebnis.

Im folgenden die tabellarische Zusammenstellung und die Kranken-eschichte der Erkrankten.

K. Erna 110/25 (7 J. alt), Tbc. pulm. Am 30. 1. auf den Tonsillen rechts mehr s links, flächenhafte, grauweißliche Beläge, beiderseits Drüsenschwellungen am alse. 3. 2. Der Belag im Halse verschwunden, auch die Drüsenschwellungen ırückgegangen.

J. Anna 95/25 (13 J.) Tbc. pulm. 10. 2. 1925 Temperaturanstieg bis 39,6, ı den unteren Polen der Gaumentonsillen schmutzigweiße Belege, besonders arker Belag an der rechten Tonsille, starke Schluckbeschwerden. 11. 2. Auch ıks ein weit ausgebreiteter schmutzig gelber Belag, der die Tonsille und den ınzen weichen Gaumen überzieht. Beiderseitige starke schmerzhafte Schwellung r Unterkieferwinkeldrüsen. 10000 AE. 12. 2. Rechts dasselbe Bild, links st sich mit Nachhilfe der ganze Belag. Temperatur 37,3. 14. 2. Der Belag chts geschwunden, links im Ablösen begriffen. Schwellung der Tonsillen und alsdrüsen zurückgegangen. 23. 2. Rachen noch etwas gerötet, kein Belag.

C. Rudolf 123/25 (3 J.), erkrankte am 15. 2. unter plötzlichem hohem Fieber ı einer Angina diphtherica. An beiden Tonsillen, links mehr als rechts,, schmutzig aue Beläge und Schwellung der Halsdrüsen. Die Beläge nehmen an Dicke und ısdehnung zu, die Temperatur stieg auf über 40⁰. 7000 A. E. intramuskulär.

18. 2. Beläge noch vorhanden, aber rasche Entfieberung zur Norm. 23. 2 Rachen o. B.

Aus obigem geht hervor, daß schon 3 Tage nachdem ein erwachsene gesunder Bazillenträger auf eine völlig bazillenfreie Kinderabteilung kommt ein Kleinkind auch Bazillenträger wird. Nach einer Woche — leider wa innerhalb dieser Zeit keine Untersuchung gemacht worden — werden noch 3 Kinder D. B. positiv, und zwar wieder Kleinkinder, während der Befund bei einer Wärterin und einem größeren Kinde fraglich ist. Es ist woh anzunehmen, daß bei kleinen Kindern ein innigerer Kontakt zwische Pflegerin und Kind vorliegt. Das Kind mit dem fraglichen Befund er krankt am nächsten Tag an einer verdächtigen Angina. Nach 16 Tage sind weitere 3 Kinder positiv. 20 bzw. 23 Tage nachdem die Pflegeri auf die Abteilung gekommen war, erkranken 2 Kinder an einer sichere Di., und zwar Kinder, die während dieser Untersuchung immer bazillen frei waren. Erst nach 7 Wochen war die Abteilung frei von D. B. un blieb es auch weiterhin. Aus der Tatsache, daß die Kinder dieser Abteilun vor und nach dieser Zeit bazillenfrei waren, kann man schließen, daß tat sächlich die Pflegeschülerin die D. B. auf die Abteilung gebracht und dies von niemand anderem eingeschleppt wurden.

Es ergibt sich also, daß durch eine Bazillenträgerin von 17 Kinder 10 vorübergehend Bazillenträger wurden, von denen 3 an Di. auch er krankten. Von den 17 Kindern waren 4 Schick positiv. Daz gehörten die 3 erkrankten Kinder, während das 4., ein 1½ Jah altes Kind, trotzdem es öfters Bazillen beherbergte, nich erkrankte.

Das Eine ist also ganz sicher, daß gesunde Bazillenträger sehr häufi Di.-Krankheit hervorrufen können, und sicher ist auch, scheint uns, da gesunde Bazillenträger ihre Bazillen nicht von Di.-Kranken bekommen sondern oft von anderen gesunden Bazillenträgern bekommen müsse (Gaumitz, Riebold, Seligmann).

Von großem Interesse ist freilich auch die Frage: Ist ein großer Unter schied zwischen Ansteckung und Reichlichkeit der Bazillen bzw. zwische Erkrankung und Reichlichkeit der Bazillen bei den Bazillenträgern. E ist ja von vornherein anzunehmen, daß Menschen, welche sehr reichlic D.-B. an sich tragen, viel wahrscheinlicher eine Tröpfchenansteckung ode auch eine andere Ansteckung verursachen, als solche Träger, auf dere Schleimhäuten nur spärlich D.-B. zu finden sind. Ganz ebenso ist es mi der Erkrankung. Es ist viel wahrscheinlicher, daß Träger mit vielen Ba zillen eher eine Erkrankung hervorrufen, als solche mit wenig Bazillen Dafür würde ja auch die Untersuchung von Th. Köffler sprechen, wel cher fand, daß Tuberkelbazillenausscheider fast immer infizieren, wenn sie reichlich Bazillen tragen, während solche, die nur spärlich tragen, ver hältnismäßig selten Ansteckung veranlassen.

Aus unseren eigenen Beobachtungen können wir leider in dieser Rich tung bindende Schlüsse nicht ziehen, denn wir waren nicht in der Lage so völlig klare Beobachtungsbedingungen zu schaffen; dazu wäre not wendig gewesen, daß nicht nur alle Kinder eines Zimmers täglich unter sucht worden wären, sondern auch alle diejenigen Erwachsenen, welch

Name	Januar 19.	22.	29.	30.	Februar 5.	9.	13.	16.	17.	24.	26.	28.	März 4.	7.	10.	15.	20.
Pf. K.	+	+	+	hat die Abteilung am 3. Februar verlassen													
S. H.		+	—		+		—		—	—	—	—	—	—	—	—	—
W. A.		—	—		—		—		—	—	—	—	—	—	—	—	—
Gr. K.		—	—		—		—		—	—	—	—	—	—	—	—	—
L. H.		—	—		+		—		—	—	—	—	—	—	—	—	—
V. H.		—	—		—		—		—	—	—	—	—	—	—	—	—
A. L.		—	—		—		—		—	—	—	—	—	—	—	—	—
P. F.		—	—		—		—		—	—	—	—	—	—	—	—	—
L. A.		—	—		—		—		—	—	—	—	—	—	—	—	—
K. J.		—	+		—		—		+	—	—	—	—	—	—	—	—
A. A.		—	—		—		—		+	—	+	+	+	+	—	—	—
F. F.		—	—		—		+		—	—	—	—	—	—	—	—	—
J. A.		—	—		—	+ DE	—		—	—	—	—	—	—	—	—	—
G. F.		—	—		—		—		—	—	—	—	—	—	—	—	—
Sch. M.		—	+		—		+		+	?	—	?	—	—	—	—	—
K. E.		—	?	? DE	+		—		—	—	—	—	—	—	—	—	—
J. M.		—	+		—		—		—	—	—	?	—	—	—	—	—
C. R.		—	—		—		—	+ DE			—	—	—	—	—	—	—
E. F.							—		—	—	—	—	—	—	—	—	—
St. E.							—		—	—	—	—	—	—	—	—	—
D. T.							—		—	—	—	—	—	—	—	—	—
L. R.							—		—	—	—	—	—	?	—	—	—
Fr. H.		—	?		—		—		—	—	—	—	—	—	—	—	—

DE = Diphtherie-Erkrankung.

das Zimmer täglich betraten. Wir hätten also auch jede Pflegeperson und jeden Arzt und sonstige Erwachsene, die, wenn auch nur vorübergehend das Zimmer betraten, untersuchen müssen.

Immerhin aber sprechen unsere Beobachtungen dafür, daß gewöhnlich die Infizierenden reichlich Bazillen auf ihren Schleimhäuten beherbergen; das schließt natürlich nicht aus, daß gelegentlich auch solche, die spärlich Bazillen tragen, Ansteckung und auch Erkrankung hervorrufen können. Vielleicht wird gerade oft der latente Verlauf in der geringmassigen Ansteckung seinen Grund haben, der manifeste, das ist Erkrankung in einer massigen Infektion. Doch ist es sicher möglich, daß gelegentlich auch geringmassige Infektion Krankheit, massige Infektion latenten Verlauf verursachen könne. Es spielt da die Disposition sicherlich eine ganz wesentliche Rolle.

II. Folgen der Ansteckung.

Am Menschen sind zahlreiche Beobachtungen über die Folgen der Ansteckung gemacht worden. Wenn auch in den allermeisten Fällen die genaueren Umstände (Quelle, Zeitpunkt und Art der Ansteckung) nicht bekannt sind, so gibt es doch immerhin eine Reihe von Fällen, wo man die genaueren Umstände fast mit Sicherheit festgestellt hat, so daß aus den klinischen Beobachtungen allein schon eine ganze Anzahl von Schlüssen über das Verhalten des Menschen zur Ansteckung gezogen werden kann.

Zu solch klinischen Beobachtungen kommen dann noch experimentell Untersuchungen am Menschen.

I. Klinische Beobachtungen: Es sind Fälle bekannt, wo Ärzt an Di. erkrankten, nachdem sie Trachealwunden von Krupp-Kindern mi dem Munde ausgesaugt hatten. Jacobi und Syrmington bekame Schlund-Di. am zweiten Tage, nachdem sie eine Trachealwunde ausge sogen, Barthels eine Angina-diphth. am dritten Tage, nachdem er Lu durch eine verunreinigte Kanüle geblasen, ebenso Kardel, als er ein Kruppmembrane in den Schlund bekommen hatte (Laurent). In solche Fällen wird niemand zweifeln, daß das Aussaugen tatsächlich die A steckung bedeutete. Von diesen Beobachtungen ist bekannt, daß die E krankung schon am ersten, zweiten oder dritten Tage nach der Ansteckun erfolgte.

Auf jeden Fall können unter Umständen schon sehr geringe Menge wie sie eben durch die Tröpfcheninfektion vielleicht auch Schmierinfektio in den Menschen kommen, eine Di-Krankheit hervorrufen. In diesen Fälle freilich wissen wir nur selten etwas Genaueres über Infektionsquelle un Infektionszeitpunkt. Fälle, in denen die Quelle und der Zeitpunkt de Infektion jedoch mit größter Wahrscheinlichkeit sichergestellt sind, wäre folgende, die Laurent einer Di.-Epidemie, von Lus beschrieben, ent nommen hat.

1. Ein Mädchen, welches den 1. März in ihr Heim kam, wo ihre Ge schwister während ihres Wegseins an Di. erkrankt waren, und das abend am 2. März erkrankte.

2. Ein Kind, das am 6. März in Berührung mit einer früher isolierte Schwester kam und das am 7. März erkrankte.

3. Ein Mädchen, das die Nacht zum 7. März mit einem kranke Bruder, der isoliert war, in Berührung kam und das 24 Stunden späte erkrankte.

Für die erwähnten Fälle ist es charakteristisch, daß die Inkubations zeit außerordentlich kurz ist und daß die Erkrankung schon 24 Stunde nach der Ansteckung eintritt. Dem entsprechen weiter unten folgend Beobachtungen, wo in dem einzigen Falle krankmachender Ansteckun diphtherische Beläge bereits 24 Stunden nach der experimentellen An steckung sich entwickelt hatten.

Diesen Fällen von erfolgreicher Ansteckung stehen aber zahllose wir kungslose Ansteckungen gegenüber, denen jeder Mensch wenigstens i der Stadt sicher sehr häufig ausgesetzt ist. Denn wenn man bedenkt, wi außerordentlich häufig D. B.-Träger vorkommen, so ist es eine Forderun kritischer Überlegung, wenn man annimmt, daß sich die Menschen seh häufig mit D. B. anstecken und doch nur sehr wenig von ihnen an Di erkranken.

Schon die klinische Erfahrung lehrt uns, daß die Ansteckung mi D. B. nur in seltenen Fällen zu einer richtigen Erkrankung führt. Dies klinische Erfahrung stimmt überein mit den exakten Beobachtungen de verschiedensten Forscher. So ist denn die Diphtherie das Prototyp eine fakultativen Infektionskrankheit, d. h. die Ansteckung führt nur unte

;anz bestimmten Voraussetzungen auch zu einer Erkrankung, während ,. B. die Masern fast in jedem Falle der Ansteckung auch die Erkrankung ıach sich ziehen.

Es zeigt von oberflächlichem Denken, wenn man annimmt, daß die ıicht erkrankten Kinder einer Familie, wo ein oder zwei Diphtheriefälle 'orgekommen sind, nicht angesteckt worden seien. Freilich bleibt hier mmer noch die Möglichkeit der Annahme, daß die Erkrankten sehr massig, lie Nichterkrankten aber nur mit geringen Mengen angesteckt seien. Das lürfte wohl auch gelegentlich zutreffen. Daß aber die gleiche Infektions- .osis und die gleiche Infektionsart bei einem Kinde eine Krankheit hervor- ufen kann, bei einem anderen nicht, das läßt sich auch experimentell .achweisen. Übrigens verfügen wir über eine sehr lehrreiche Beobachtung, /o ein 8jähriges Mädchen, das hochvirulente Bazillen trug, nach seiner Irkrankung wieder in die Schule ging, ohne daß eine einzige der 40 Mit- chülerinnen erkrankte. Es ist ganz und gar nicht anzunehmen, daß diese Bazillenträgerin keine ihrer Mitschülerinnen angesteckt haben sollte.

II. Experimentelle Untersuchungen: Guthrie, Gelien und Ioß konnten mit einem avirulenten Stamm an 5 Personen keine Erkran- ung bzw. Umwandlung des avirulenten Stammes in einen virulenten er- ielen, wohl aber gemeinsam mit Marshall in einem späteren Versuch ıit einem virulenten Stamme die interessante Tatsache feststellen, daß ie diphtherietoxinempfindlichen, schickpositiven Individuen an Diphtherie rkrankten, während die schicknegativen nicht erkrankten, obwohl die .nsteckung mit ein und derselben Kultur auf gleiche Weise erfolgte. Wie 'ir aber gleich sehen werden, ist das keineswegs als die Regel anzusehen. Is erkranken nämlich auch Schickpositive, also Toxinemp- indliche trotz sicherer Ansteckung oft genug nicht.

Eigene Beobachtungen:

Infektionsversuche, welche ausschließlich mit virulenten D. B. vor- enommen wurden.

I. E. M., 1½jähriges idiotisches Kind, schicknegativ, kein Antitoxin im lute nachweisbar.

1. 21. 12. 1921. Es werden je 2 Ösen einer D. B.-Aufschwemmung auf beide onsillen gebracht. Nach 5 Minuten trägt die linke Tonsille noch Bazillen, die echte nicht. Alle weiteren Abstriche sind negativ.

2. 22. 12. 1921. In jedes Nasenloch wird eine Öse der Aufschwemmung ein- eführt. Nach 2 Stunden sind in der rechten Nasenhöhle noch Bazillen nach- eisbar, in der linken nicht mehr. Später keine Bazillen mehr nachweisbar.

3. 9. 1. 1922. In jedes Nasenloch ein Tropfen einer Bazillenaufschwemmung. echts sind nur noch nach 1, 2, 24 und 48 Stunden, aber nicht länger Bazillen achweisbar. Links nur noch nach 1, 2 und 24 Stunden.

12. 1. 1922. Temperatursteigerung auf 37,5°, übellaunig, schleimiger Aus- uß aus beiden Nasenlöchern. Wegen Pertussis transferiert. 26. 10. 1922. Im lute 0,6 A. E. pro ccm.

Diese 3 Ansteckungsversuche sind also, was Erkrankung anlangt, öllig erfolglos verlaufen. Ferner sehen wir, daß selbst nach kurzer Zeit chon wenige Stunden nach der Ansteckung beim 1. Versuch keine Ba- illen mehr nachweisbar sind, ebenso auch im 2. Nur im 3. zeigen sich '. B. durch 2 Tage, um dann auch zu verschwinden bzw. sich dem Nach-

weise zu entziehen. Im Verlauf von 9 Monaten (Januar-Oktober 1922) entwickelt sich ein nicht unbeträchtlicher Antitoxingehalt. In dieser Zeit war keine Erkrankung an Di. aufgetreten.

II. E. K., 1¾ Jahre, mit Adipositas.

1. 19. 11. 1923. Kein Antitoxin im Blut. D. B.-Aufschwemmung (Glyzerinbouillon) wird auf die linke Tonsille und ins rechte Nasenloch gebracht. Bis 28. 11. war der täglich vorgenommene Abstrich bazillennegativ.

2. 28. 11. 1923. Keine klinischen Erscheinungen. Im Blut ist kein Antitoxin nachweisbar. Der Versuch wird mit dem gleichen Bazillenstamm und derselben Versuchsanordnung wiederholt. Bis zum 1. 12. waren die täglichen Rachen- und Nasenabstriche D. B. negativ.

1. 12. 1923. Linke Tonsille und rechtes Nasenloch zeigen im Abstrich Bazillen! Dieser positive Befund bleibt in der Nase bis zum 6. 12., an der Tonsille bis zum 10. 12.

16. 12. 1923. Im Blut mehr als 0,25 A. E. pro ccm.

8. 1. 1924. 0,05 A. E. pro ccm.

3. 28. 1. 1924. Der Versuch wird zum 3. Mal angestellt. Das Blut enthält weniger als 0,1 A. E. pro ccm. Bis 12. 2. sind die täglich vorgenommenen Abstriche ohne Bazillen.

In diesem Falle keine Erkrankung trotz fehlendem Antitoxingehalt in den ersten beiden Versuchen. Schon wenige Minuten nach der Ansteckung sind keine Bazillen nachweislich im 1. und 3. Versuch, während im 2. die Bazillen durch 2 Tage verschwunden sind, um dann auf der Tonsille durch 10 Tage, in der Nase durch 6 Tage wieder nachweislich zu werden. Der Antitoxingehalt steigt von 0 auf 0,25, um dann wieder auf 0,05 zu fallen. Was das Verhalten des Antitoxins anlangt, ist eine Erklärung schwer möglich. Nach dem 1. Infektionsversuch ist nach 9 Tagen noch kein Antitoxin nachweislich. Vielleicht war diese Zeit zu kurz; 18 Tage nach dem 2. Versuch finden wir bereits Antitoxin, das 23 Tage später wesentlich abgenommen hat. Wir sehen hier, daß sich ein und dasselbe Individuum zu verschiedenen Zeiten gegenüber dem eingebrachten D. B. verschieden verhält.

III. F. J., 6½ J., Imbecillität. Anamnestisch keine Di.-Erkrankung.

16. 11. 1923. 0,02 A. E. im ccm Blut. Das Kind liegt neben dem vorigen während des Infektionsversuches an diesem; die während dieser Zeit vorgenommenen täglichen Abstriche sind D. B. negativ.

1. 28. 11. 1923. Antitoxingehalt auf 0,1 A. E. gestiegen. Es wird nun der Infektionsversuch wie beim vorigen Kinde angestellt. Die noch am gleichen Tage und am 29. 11. vorgenommenen Abstriche sind D. B. negativ. Erst am 30. 11. 1923 zeigt die linke Tonsille Bazillen, und zwar bis zum 23. 12. Am 6. 12. 1923 wird die rechte Nase bazillenpositiv und bleibt es bis zum 16. 12.

17. 12. 1923. Im Blut mehr als 0,75 A. E. pro ccm.

12. 1. 1924. Alle Abstriche sind negativ, mehr als 0,75 A. E. pro ccm.

Wir sehen hier, daß bei einem Antitoxingehalt von 0,1 A. E. die D. B. sofort verschwinden, durch 2 Tage nicht nachweislich bleiben und nun aber auf den Tonsillen durch etwas mehr als 3 Wochen, in der Nase durch 10 Tage vorhanden sind. Dabei steigt der Antitoxingehalt auf mehr als 0,75 A. E. im ccm.

IV. Th. J., 1 J. alt, Pertussisrekonvaleszent. Hat keine klinische Di. durchgemacht, war aber einmal Bazillenträger durch kurze Zeit. Schickpositiv, kein Antitoxin im Serum.

13. 6. 1924. Künstliche Infektion der rechten Tonsille und des linken Nasenloches durch Aufstreichen einer Bouillonaufschwemmung von D. B. Bis 24. 6

sämtliche Abstriche bazillennegativ, keine klinischen Erscheinungen, kein Antitoxin.

Bei dem Kinde sind schon einige Minuten nach der Ansteckung keine Bazillen nachweislich, eine Zunahme des Antitoxingehaltes wird nicht beobachtet.

V. F. J., 7½ J. (identisch mit Fall III), Imbecillität.

2. 12. 12. 1924. Ein kaltes Bad und sofortige Infektion der linken Tonsille mittels eines Wattetupfers und Einträufeln von einigen Tropfen der D. B.-Aufschwemmung in das rechte Nasenloch. Das kalte Bad wurde in der Annahme gegeben, daß dadurch die Widerstandskraft gegen die Infektion herabgesetzt würde, da vorherige Infektionsversuche zu keiner Erkrankung führten. Vor dem Versuch war das Kind bazillenfrei, schicknegativ und hatte im ccm Serum 1,1 A. E.

Die Kultur, die von Rachen und Nase nach 3 Stunden angelegt wurde, ergab D. B. in Reinkultur. Bis zum 17. 12. Rachenabstrich, der täglich vorgenommen wurde, kulturell spärlich positiv, am 18. 12. sehr reichlich. Die Reinzüchtung gelang jedoch nicht.

Am 22. 12. wurde auch der Rachen negativ, während die Nase schon am 15. 12. negativ war.

20. 12. 1924. 0,7 A. E. pro ccm. Keine Zeichen einer Di.-Erkrankung.

Hier sehen wir, daß bei einem Kinde mit hohem Antitoxingehalt durch 9 Tage im Rachen D. B. nachweislich waren, während in der Nase nur durch 2 Tage D. B. gefunden werden konnten. Der Antitoxingehalt fiel in dieser Zeit! Keine Erkrankung.

VI. E. K., 2¾ J. (identisch mit Fall II).

12. 12. 1924. Infektionsmodus wie oben, doch ohne Bad. Vor dem Versuche war sie bazillenfrei, schicknegativ und hatte im ccm Serum 0,4 A. E. 3 Stunden nach der Infektion konnten aus Rachen und Nase Reinkulturen von D. B. gezüchtet werden.

Am 14. 12. 1924 wird der Rachen bazillenfrei, die Nase erst am 17. 12. Von da ab Nase und Rachen dauernd D. B. negativ.

Am 20. 12. 1924 0,2 A. E. im ccm.

Am 16. 2. 1925 0,15 A. E. pro ccm.

In diesem Falle sind die Bazillen bei einem Kinde mit mäßig reichem Antitoxingehalt im Rachen durch 2 Tage, in der Nase durch 5 Tage zu finden, um dann dauernd zu verschwinden. Der Antitoxingehalt fällt in dieser Zeit 8 Tage nach dem Ansteckungsversuch. 8 Tage nach der Ansteckung beträgt der Antitoxingehalt 0,2 A. E. pro ccm. Auch um Monate später ist der Antitoxingehalt niedriger als vor dem Infektionsversuch.

VII. M. J., 3 Jahre alt, Idiotie, schickpositiv, verspätete Reaktion, D. B. frei, weniger als 0,005 A. E. im ccm Serum. Infektionsmodus wie oben.

3 Stunden nach der Infektion Reinkultur von D. B. aus Rachen und Nase. Am 13. 12. 1924 Rachen reichlich, Nase spärlich kulturell D. B. Am Nachmittag Temperatursteigerung auf 37,3, am 14. 12. strichförmiger Belag an der linken Tonsille. Temperatur 37,5°. Beim Reinigen der Nase bemerkte die Pflegerin an der Watte blutigeitriges Sekret. Die Untersuchung der Nase mittels Spiegels ergab einen verdächtigen schleierhaften Belag an der rechten Nasenmuschel. Ein von dem Belage an der linken Tonsille angelegter Abstrich ergab eine Reinkultur von D. B., die von Herrn Prof. Hammerschmidt als zur Gruppe des zur Infektion benützten Stammes (Gruppeneinteilung der D. B. nach Hammerschmidt) gehörig identifiziert wurde.

15. 12. 1924. Belag an der Tonsille ohne Serumbehandlung geschwunden.

16. 12. 1924. fieberfrei; bis zum 17. 12. Rachen reichlich, Nase spärlich positiv.

20. 12. 1924. Schickpositiv, weniger als 0,005 A. E. im ccm Serum.

Von den 5 hier mitgeteilten Fällen bzw. 11 Ansteckungsversuchen kam es also nur in einem Fall zu einer Erkrankung, wenn auch in ganz geringfügigem Ausmaße, im Anschluß an die künstliche Infektion. Im Gegensatz zu den Kindern der früheren Infektionsversuche handelt es sich bei diesem um ein schwächliches, für sein Alter stark zurückgebliebenes Kind, das an wiederholten Fieberattacken bis 39° unbekannter Aetiologie litt. Von besonderem Interesse bei dieser künstlich erzeugten Di.-Erkrankung ist die kurze Inkubationszeit.

Vom 1. 1. 1925 bis Anfang Februar 1925 machte das Kind einen Paratyphus-B. durch. Der Appetit war während der Ty.-Erkrankung verhältnismäßig gut, keine nennenswerte Gewichtabnahme.

7. 1. 1925. Schickpositiv. M. J. war seit dem 18. 12. 1924 D. B. frei, und zwar wurden bis zum 22. 12. 1924 täglich Nase und Rachen besonders abgestrichen, von da an wöchentlich einmal.

Am 28. 1. 1925 ist der Nasenabstrich kulturell reichlich positiv. Prim. Krassnigg untersuchte am 30. 1. die Nase, da seit 3 Tagen ein blutigeitriger Nasenausfluß bestand. Befund: Links blutigschleimiges Sekret, an der Nasescheidewand ein rot geränderter linsengroßer Belag. Rechts etwas unblutiges Sekret.

Am 3. 2. 1925, schicknegativ, Antitoxingehalt 0,01 A. E. pro ccm Serum.

Am 8. 2. 1925, Rachen-Nasenabstrich negativ.

In diesem Falle kam es innerhalb der ersten 24 Stunden zu einer Erkrankung der linken Tonsille und des rechten Nasenganges, also gerade der angesteckten Stellen. Die Erkrankung war eine ganz leichte und heilte ohne Serumbehandlung ab. Nach 14 Tagen kommt es zu einer spontanen Di.-Erkrankung.

Es wurden also an 5 Kindern 11 Ansteckungsversuche im Laufe der Zeit gemacht, und da zeigte sich nun, daß die Kinder, sowohl was die Nachweislichkeit der Bazillen auf ihren Schleimhäuten als auch das Verhalten des Antitoxingehaltes im Blute anlangt, sich verschieden verhalten. Ja, wir sehen sogar, daß ein und dasselbe Kind sich zu verschiedenen Zeiten zur Infektion verschieden verhält (Fall F. J. und K. E.).

Vor allen Dingen fällt auf, daß auch bei Kindern ohne Antitoxin im Blute eine Erkrankung nicht einzutreten braucht (Fall 1, 2 und 4). Von 4 Kindern ohne Antitoxingehalt erkrankt im Anschlusse an die Ansteckung nur eines und das sofort, **sozusagen ohne Inkubationszeit.** Wir sehen ferner, daß die Bazillen in anderen Fällen schon wenige Stunden nach der Ansteckung verschwinden, gleichgültig, ob die Angesteckten Antitoxin in ihrem Blute hatten oder nicht. Ein fast sofortiges Verschwinden nach 2 bis 3 Stunden wurde in 11 Versuchen 7mal beobachtet. Allerdings kehrten in 2 Fällen die D. B. nach 48 Stunden wieder zurück, richtiger gesagt, sie waren nach 48 Stunden wieder nachweislich, um hierauf einmal durch 3 Wochen im Rachen, durch 10 Tage in der Nase, das andere Mal 10 Tage im Rachen, 6 Tage in der Nase auffindbar zu bleiben. Daß es sich hier nicht um eine interkurrierende Ansteckung von außen handelt, wird dadurch wahrscheinlich gemacht, daß die betreffenden Kinder in einem Raume für sich abgesondert waren, und daß bei beiden Kindern zur selben Zeit diese Erscheinung auftrat. Den verschiedenen Verlauf bei den verschiedenen

.indern kann man entweder auf die Verschiedenheit der verwendeten i.-Stämme oder auf Schwankungen der Disposition zurückführen.

In 4 Fällen blieben die D. B. ununterbrochen nach der Ansteckung urch mehrere Tage nachweislich, so in einem Falle im Rachen durch) Tage, in der Nase durch 6 Tage, bei einem Kinde 9 Tage im Rachen, Tage in der Nase, wieder bei einem durch 2 Tage im Rachen und 5 Tage ι der Nase und bei dem erkrankten Kinde durch 6 Tage im Rachen und ι der Nase, wobei kulturell D. B. in der Nase in den letzten 2 Tagen spär-ɔh nachweisbar waren. Auffällig ist, daß in den meisten Fällen die Ba-llen im Rachen länger nachweislich sind als in der Nase.

Wie schon kurz erwähnt, kam es nach der Ansteckung weder zu einer ɘsetzmäßigen Steigerung noch zu gesetzmäßigem Absinken des Antitoxin-ɘhaltes. In 5 Fällen war kein Antitoxin vor dem Versuch vorhanden. ı 2 Fällen wurde vorher nicht besonders untersucht, in 4 Fällen war ntitoxin vorhanden.

Bei E. K. findet sich 9 Tage nach der ersten Infektion kein Antitoxin. ielleicht war die Zeit zur Bildung zu kurz. 18 Tage nach der 2. Infektion 25 A. E. im cm³ mit einem darauffolgenden Absinken aus unbekannter rsache 41 Tage nach der 2. Infektion ein weiteres Absinken auf 0,05 A. E. ei Th. 11 Tage p. i. kein Antitoxin bei M. 8 Tage und 26 Tage p. i. trotz ısch geheilter Erkrankung kein Antitoxin! Dieses bildete sich erst einige Vochen später im Anschluß an eine spontane ohne Serum abheilende Di.-rkrankung. Im Falle F. J. finden wir einen Anstieg des Antitoxingehaltes ɔn 0,1 auf 0,75 A. E. 19 Tage p. i., nachdem schon vor dieser Ansteckung ne spontane Steigerung von 0,02 auf 0,1 eingetreten war, ohne daß bei ɘn täglich vorgenommenen Untersuchungen D.B. gefunden worden wären. n Gegensatz dazu finden wir bei demselben Kinde 8 Tage nach der Ansteckung eine Abnahme von 1,1 A. E. auf 0,7, bei E. K. eine Ab-ahme von 0,4 A. E. auf 0,2 nach 8 Tagen bzw. auf 0,15 nach 56 Tagen p. i.

Wir würden es für falsch halten, diese Abnahme als den Ausdruck ner negativen Phase durch Absättigung des Antitoxins infolge der An-eckung anzusehen (Kochmann); denn wenn wir uns auch vorstellen önnen, daß die Bildung von Antitoxin länger als 8 oder 9 Tage im An-hlusse an die erste Infektion dauert, so müssen wir doch nach dem Ge-tze der verkürzten Reaktionszeit erwarten, daß Individuen mit bereits nmal gebildetem Antitoxin sehr rasch neues Antitoxin bilden, wenn e durch Ansteckung neuerlich gereizt werden. Im übrigen kann mit-ɘteilt werden, daß wir in einem Falle bei einem Erwachsenen Dr. O. hon einen Tag nach der Toxineinspritzung der 100fachen Schickdosis ɘine Abnahme, sondern eine geringe Zunahme des Antitoxins feststellen ɔnnten.

Daraus geht also hervor, daß die Abnahme des Antitoxingehaltes ı Anschluß an die Ansteckung nicht damit zu erklären ist, daß man e 2. Blutuntersuchung zu früh nach der Ansteckung vorgenommen habe.

Wir sehen, daß die Ansteckung sowohl von einer Steigerung des Anti-ɔxingehaltes sowie von einer Abnahme gefolgt sein kann. Wahrschein-ɔh handelt es sich hier nur um Schwankungen des Antitoxingehaltes un-ɔhängig von der Infektion.

Anfangs wurden bei den Infektionsversuchen auch Untersuchungen über das Verhalten der D. B.-Agglutinine gemacht. Anfangs glaubten wir auch da eine gewisse Gesetzmäßigkeit nachweisen zu können, indem gleich beim ersten Versuch ein starkes Ansteigen der Agglutinine beobachtet wurde. Bei späteren Versuchen aber wurde oft ein Fehlen jeglicher Agglutination beobachtet. Wir haben daher weitere Untersuchungen aufgegeben.

Wie erwähnt, genügten schon die groben Beobachtungen der vorbakteriologischen Zeit, um zu sagen, daß die Folgen der Ansteckung bei der Diphtherie bei den verschiedenen Menschen verschieden sein müssen wußte man doch schon damals, daß ein Arzt trotz viel Beschäftigung mit Diphtheriekranken nicht erkrankt, ein anderer erkrankt. Es war doch ganz und gar nicht anzunehmen, daß sich der eine angesteckt haben sollte und der andere nicht. Das führte ja auch zu der wohlberechtigten Lehre der verschiedenen Diphtherieempfänglichkeit. In überzeugender Weise haben das aber unsere im vorigen Abschnitte mitgeteilten elf Versuche an 5 Kindern dargetan. 7mal „verschwanden" die D. B sofort nach der Infektion, um in 2 Fällen nach 48 Stunden wieder nachweisbar zu sein, in 4 Fällen blieben die D. B. ununterbrochen nach der Ansteckung durch mehrere Tage nachweislich und nur ein einziges Mal führte die Ansteckung zu einer Erkrankung.

Die Folgen der Ansteckung können wir also einteilen in Fälle wo

I. Die D. B. fast sofort verschwinden.

II. Die D. B. im angesteckten Menschen weiter leben, und zwar:

a) Entweder gleichsam als harmlose Parasiten ohne eine Erkrankung zu machen (Inaktiver Parasitismus) oder

b) die D. B. als richtige Krankheitserreger irgendwelche der klinisch bekannten Krankheitsbilder hervorrufen (Diphtheriekrankheit = aktiver Parasitismus).

Wenn wir die Ansteckung einerseits, die Folgen der Ansteckung anderseits streng auseinander halten, und das müssen wir, so ergibt sich klarer Weise weiter, daß die Ansteckung ein mechanischer Vorgang ist, die Folgen der Ansteckung dagegen auf biologischen oder biochemischen Vorgängen beruhen, gleichgültig ob die eben erwähnte erste oder zweite Folgemöglichkeit nach der Ansteckung eintritt.

ad I. Wenn die D. B. schon wenige Stunden nach der Ansteckung in manchen Fällen verschwinden, so kann das darauf zurückgeführt werden, entweder daß sie sofort vernichtet werden, was einem biologisch chemischen Vorgang entspricht, oder daß sie einfach nicht haften und weggeschwemmt werden (mechanischer Vorgang). Es läßt sich nun freilich nicht feststellen, um welche dieser beiden Vorgänge es sich in diesen Fällen handelt.

ad II a) Auch in dem Falle, wo die Folgen der Ansteckung darin bestehen, daß die D. B., ohne Krankheitszeichen zu machen, auf den Schleimhäuten weiter leben oft durch Tage und Wochen

muß ein biochemisches Geschehen zugrunde liegen. Für diesen Zustand wurde der Ausdruck latenter Mikrobismus vorgeschlagen. Dieser Ausdruck stammt, wie wir einer Arbeit von Haberland entnehmen, von Manfredi.

ad II b) Im Falle der Erkrankung liegt ebenso zweifellos eine biochemische Wechselwirkung zugrunde, was wohl nicht näher ausgeführt zu werden braucht.

Nun zu der Besprechung der Frage des Parasitismus oder Mikrobismus. Unter latentem Mikrobismus hat Manfredi einen Zustand verstanden, bei dem die betreffenden Mikroben in den Lymphdrüsen bzw. in den Geweben, also jenseits der Schleimhäute ein harmloses Schmarotzerdasein führen. Auf den Beobachtungen und Anschauungen Manfredis fußten Wrzosek, Melchior, Most, Haberland, Löser, Salomon und Reiter und sprachen vom „latenten Mikrobismus", von „ruhender", „schlummernder", „latenter" und „stummer" Infektion und vom „endogenen" Mikrobismus.

Ob wir den Ausdruck „Mikrobismus" beibehalten oder statt dessen von „Parasitismus" sprechen, ist ziemlich gleichgültig; immerhin erscheint uns aus didaktischen Gründen letzterer Ausdruck zweckmäßiger, weil in dem Worte Parasitismus bereits ausgedrückt ist, daß das betreffende Mikrobion auf Kosten des Menschen lebt, gleichgültig, ob es dies 1. in Form harmlosen oder 2. gefährlichen krankmachenden Schmarotzertums macht. Im ersten Falle würden wir von einem inaktiven, im zweiten von einem aktiven Parasitismus sprechen. Dieser aktive Parasitismus kann manifest oder latent sein, d. h. die Krankheit wird entweder in ihrer Ursache erkannt oder nicht erkannt. Wir glauben, zwischen dem Leben von Parasiten auf der Oberfläche oder im Gewebe des Menschen keinen wesentlichen Unterschied sehen zu sollen, und wir möchten daher einfach nur von einem Parasitismus sprechen und diesen dann in einen aktiven und inaktiven, in einen latenten und manifesten und in einen offenen und geschlossenen unterscheiden. Mit dieser Einteilung sind wir einfach der nach Naegeli üblichen Einteilung der Tuberkulose gefolgt.

Aber es kann auch der inaktive Parasitismus (Parasitismus im engeren Sinne) manifest oder latent sein, je nachdem, ob er aufgedeckt wird oder nicht. In den meisten Fällen ist der inaktive Parasitismus latent, weil die entsprechenden Untersuchungen entweder nicht gemacht werden oder die Parasiten trotz Untersuchung nicht aufgedeckt werden können.

Während nun nach unseren heutigen Anschauungen nur eine aktive Tuberkulose offen sein kann, so können wohl andere Infektionskrankheiten unter anderem auch die Diphtherie offen sein, obwohl sie inaktiv sind; das ist dann der Fall, wenn ein ganz gesunder Mensch ohne Rachenrötung und ohne Schnupfen virulente D. B. in Nase oder Rachen hat.

Es ist der Begriff der inaktiven offenen Di. völlig gerechtfertigt und gleichbedeutend mit dem inaktiven Parasitismus überhaupt. Das gilt auf jeden Fall für die Di., von der man heute wenigstens annimmt, daß lebende D. B. in der Tiefe der Gewebe oder gar in den Lymphdrüsen nicht vor-

kommen, wenn man von seltener, besonders schwerer Di.-Erkrankung ab sieht. Dementsprechend kommt also eine geschlossene Di. beim inaktiven Parasitismus nach unseren heutigen Kenntnissen überhaupt nicht vor dagegen ist es nicht ganz ausgeschlossen, daß es Fälle von geschlossenen aktiven Parasitismus bei der Di. gibt. Wir finden nämlich gelegentlich daß Fälle von zweifelloser klinischer Di., die sich auch späterhin bakterio logisch feststellen läßt, anfangs beim Abstreichen ein negatives Kultur ergebnis zeitigen, während in den Membranen selbst die D. B. mikro skopisch nachgewiesen werden können. In solchen Fällen müssen wir an nehmen, daß die Bazillen an der Oberfläche der Membran, über die de Tupfer streicht, gar nicht oder in so geringer Zahl vorhanden sind, daß sie im Kulturverfahren nicht erscheinen. Nun noch einiges über die latente und manifeste Di.: Latent heißt verborgen, manifest handgreiflich oder offensichtlich. Vor der bakteriologischen Zeit waren alle Fälle von in aktivem Parasitismus selbstverständlich latent, heute werden sie durch das Kulturverfahren manifest. Wir unterscheiden demnach *klinisch und kulturell manifeste* Diphtherien.

Hier sind fließende Übergänge vorhanden, die Grenze ist oft schwer zu ziehen. Im allgemeinen wird man wohl eine nicht membranöse, sondern nur katarrhalische Angina mit D. B. nicht als klinisch manifest, sondern als kulturell manifest bezeichnen.

Es sind also theoretisch 8 verschiedene Formen einer Infektionskrankheit und damit auch 8 verschiedene Formen der Di. möglich.

1. Eine aktive, manifeste, offene Di.,
2. eine aktive, manifeste, geschlossene Di.,
3. eine aktive, latente, offene Di.,
4. eine aktive, latente, geschlossene Di.,
5. eine inaktive, manifeste, offene Di.,
6. eine inaktive, latente, offene Di.,
7. und 8. Eine inaktive (manifeste oder latente) geschlossene Di.

1. Eine aktive, manifeste, offene Di. liegt in jedem Falle vor, wo eine klinische oder kulturell nachgewiesene Di.-Krankheit mit Bazillenausscheidung vorhanden ist. Hieher gehören fast alle Fälle von Di.-Krankheit.

2. Eine aktive, manifeste, geschlossene Di. liegt dann vor, wenn ein Di.-Kranker keine Bazillen ausscheidet. Ob das jemals vorkommt, ist eine andere Frage.

3. Eine aktive, latente, offene Di. ist jede Di.-Krankheit, welche aus irgendwelchem Grunde nicht erkannt wird oder nicht zu erkennen ist; wir hätten dann hier noch zwischen einer subjektiv und objektiv latenten Di. zu unterscheiden.

4. Eine aktive, latente, geschlossene Di. besteht dann, wenn eine nicht erkannte oder erkennbare Di.-Krankheit keine Bazillen nach außen abgibt. Auch das dürfte kaum jemals vorkommen.

5. Eine inaktive, manifeste, offene Di. beinhaltet alle gesunden Bazillenausscheider.

6. Eine inaktive, latente, offene Di. sind alle jene Fälle wie unter 5., bei denen die Bazillen nicht nachgewiesen wurden oder nicht nachweisbar sind.

7. und 8. Inaktive (manifest oder latent) geschlossene Di. wird kaum emals vorkommen, außer wir nehmen an, daß jeder Mensch, der mit). B. infiziert war, bleibend unter der Oberfläche in nicht ansteckender 'orm lebende D. B. enthält; diese theoretisch möglichen Di.-Formen be-tehen möglicherweise, was erst durch weitere Untersuchungen festgestellt verden könnte. Die theoretische, möglicherweise nicht vorkommende in-ktive geschlossene Di. kann dann manifest bzw. latent sein, je nachdem b sie nachgewiesen wird oder nicht.

Diese systematische Einteilung scheint uns nicht von einem über-agenden Wert für unsere Kenntnis zu sein, vielleicht hat sie aber doch inen gewissen didaktischen Wert.

Wie wir gesehen haben, entziehen sich die Bazillen bei manchen ndividuen sehr bald nach der Ansteckung dem Nachweise. Man hätte ich nun vorstellen können, daß das bei Individuen geschieht, welche die 3azillen vermöge einer besonderen bakteriziden Immunität rasch abzu-öten vermögen. Hiefür kämen theoretisch besonders Individuen mit posi-iver Pseudoreaktion in Betracht.

Unter der Pseudoreaktion versteht man seit Schicks Untersuchungen ie Reaktion auf erhitztes Toxin, welche im Gegensatze zur echten Toxin-eaktion in einigen Tagen spurlos verschwindet, während die echte Toxin-eaktion immer tagelang bestehen bleibt und länger dauernde Pigmenta-ionen zurückläßt. Man hätte die Pseudoreaktion, die Schick der Tuber-ulinreaktion als Gegenstück an die Seite gestellt hat, als den Ausdruck iner bakteriziden Immunität gegen den D. B. ansehen können, sowie wir us den Untersuchungen Hamburgers wissen, daß die Tuberkulin-eaktion der Indikator einer gewissen Immunität gegen Reinfektion also vohl einer bakteriziden Immunität ist. Man hätte also erwarten können, aß Menschen mit Pseudoreaktion D. B. auf ihrer Schleimhaut bald ab-öten, also nicht lange D. B.-Träger bleiben.

Diese Vorstellung erscheint recht einleuchtend, sie ist aber wie soviele inleuchtende theoretische Vorstellungen nicht richtig, denn es hat sich ezeigt, daß sehr viele Menschen mit starker Pseudoreaktion auch durch ingere Zeit Bazillenträger sein können. Es wäre doch zu erwarten ge-vesen, daß eben unter obiger Annahme solche Menschen die eingedrungenen). B. in kurzer Zeit abtöten und daher nicht Bazillenträger werden. Wir vissen also über die Voraussetzungen, die zur Abtötung der bei der An-teckung eingedrungenen D. B. nötig sind, so gut wie nichts.

Inaktiver Parasitismus als Folge der Ansteckung.

Eine sehr häufige Folge der Ansteckung ist die, daß ein An-esteckter tage-, wochen-, ja monatelang entweder reichlich der spärlich D. B. auf seiner Nasen- oder Rachenschleimhaut eherbergt. Das weiß man seit langem. Schon Löffler konnte bei inem gesunden Kinde typische D. B. im Rachen nachweisen; dieser Be-und wurde in der Folge von vielen Forschern gemacht, wir geben hier uszugsweise eine Zusammenstellung von Laurent wieder.

Autor	Material geholt aus	Zahl d. unters. Fälle	D. B. in Fällen	D. B. in % der unters. Fälle	Bemerkungen
Fibiger	gesunde Personen	82	0	0	Connex m. Diphtheriekrankh nicht nachweisbar
Ustvedt	gesunde Schulkinder	86	0	0	desgl.
Denny	gesunde Personen	235	1	0,43	desgl.
Kober	desgl.	600	5	0,83	desgl.
Park u. Beebe	desgl.	320	15	2,5	desgl.
v. Sholly	desgl.	1000	56	5,6	desgl.
Geirsvold	gesunde Schulkinder	967	87	9,2	D.-Fälle in Christiania Dez Juni 1903 gesteigert
Ustvedt	desgl.	4277	191	4,5	Die Unters. 28./5.—20./6. 190
Pennington	desgl.	?	?	10%	
Aaser	Kasernen	89	17	19%	Diphtherie war in den Kasern aufgetreten
Hellström	desgl.	786	151	19,21	Kasernenepidemie
Hellström	desgl.	1011	2	0,19	nach Erlöschen der Epidem
Fibiger	Krankenhäuser	53	3	5,6	
Müller	Krankenhaus	100	24	24%	

Vor allem fällt der große Zahlenunterschied in den Befunden d einzelnen Untersucher auf. Als Erklärung für diese Differenz kämen f gende Punkte in Betracht:

1. Die Technik der Untersuchung,
2. das Alter der Untersuchten,
3. das Milieu, in dem die Untersuchung durchgeführt wurde,
4. der Zusammenhang mit Diphtheriekranken oder Fehlen eines solch und gleichzeitiges Bestehen einer Epidemie,
5. die Jahreszeit.

ad 1. Die Art und Weise der Durchführung solcher Untersuchung spielt sicherlich eine Rolle. Schon die rein mechanische Tätigkeit der Prol entnahme kann Differenzen zur Folge haben, je nachdem man gelin oder stark abstreicht (bei letzterem werden auch die Krypten der Tonsill miteinbezogen). Ferner ist es nicht gleichgültig, ob das Untersuchung material sofort verarbeitet wird oder längere Zeit liegen bleibt. Außerde gehört zum Erkennen der D. B. eine gewisse Übung und Erfahrung, b sonders dann, wenn diese nur spärlich in der Kultur aufgegangen sind. den Fällen, in denen eine Reinzüchtung der Bazillen nicht gelingt, beste die Möglichkeit, daß es sich um diphtheroide Bakterien gehandelt hal Ausschlaggebend sind diese Fehler jedoch wahrscheinlich nicht, denn dies Unterschied in der Häufigkeit des Vorkommens von D. B. bei gesund Personen findet sich auch bei ein und demselben Untersucher, z. B. l Seligmann, der bei seinen Untersuchungen in Schulen b gesunden Kindern in 0—75% D. B. nachweisen konnte.

ad 2. Von größerer Bedeutung ist sicher der zweite Punkt, nämlich s Alter der Kinder. Es ist nicht gleichgültig, ob man Kleinkinder bis m dritten Lebensjahr oder größere Kinder untersucht. Denn bei Klein-ndern fanden wir doppelt so häufig D. B. als bei größeren Kindern, bei steren in 10%, bei letzteren in 4½% der untersuchten Fälle[1]).

ad 3. Daß der Umstand, ob die Untersuchungen in geschlossenen nstalten (Krankenhaus, Kinderheim, Kasernen oder Schulen) oder außer-lb solcher durchgeführt werden, einen Einfluß auf die Zahl der Bazillen-äger hat, scheint naheliegend. Man kann sich ganz gut vorstellen, daß rt, wo viele Personen auf einen verhältnismäßig engen Raum beschränkt nd, ein innigerer Kontakt zwischen den einzelnen erfolgt und daher chter eine Ansteckung möglich ist. Wenn wir das Ergebnis unserer Unter-chungen darauf hin ansehen, so ergibt sich ein scheinbarer Widerspruch, nn wir fanden in den Kinderheimen ungefähr gleich viel (4 und 9%) azillenträger als in Mütterberatungsstellen (8%). Ja, in einem Kinder-im konnten wir bei zweimaliger Untersuchung bei 60 Kindern keine B. nachweisen. Dieser Widerspruch mit obiger Annahme dürfte wohl rin seinen Grund haben, daß in einem solchen Heim eben einmal ein azillenträger mit reichlichen D. B. vorhanden ist und viele Kinder an-eckt, welche dann, wenn gerade die Dispositionsverhältnisse entsprechend nd, durch längere Zeit D. B. Träger werden können, ein anderesmal eben ı solcher Bazillenträger fehlt.

ad 4. Daß für die Häufigkeit der Bazillenträger der Konnex mit phtheriekranken von ausschlaggebender Bedeutung sei, nahm unter dern Kober an, der aus der Literatur 18,8% Bazillenträger in der Um-bung von Kranken und ohne Zusammenhang mit Kranken 7% errechnete. a ihm diese Zahlen viel zu hoch schienen, ging er dieser Frage nach und nd in der Umgebung von Kranken nur 8% D. B., bei dem Material, das cht aus der Umgebung von Kranken stammte, 2½% und ohne sicher chweisbaren Konnex mit Diphtheriekranken 0,83% Bazillenträger. cheller konnte bei Individuen, die sicher nicht mit Diphtheriekranken in erührung waren, nie D. B. nachweisen, während er in der Umgebung von ranken immer solche finden konnte, und zwar fand er bei 3 Lehrer-milien bei wiederholter Untersuchung bei jedem einzelnen Familien-itgliede D. B.

Tjaden, der durch 6 Monate jedes ins Spital aufgenommene Kind f D. B. untersuchte, fand unter 233 Individuen D. B. oder D. B. ähnliche äbchen 42mal, d. i. in 18%. Er selbst ist aber nicht geneigt, diese Stäb-en, welche von entfernter bis zur größten Ähnlichkeit mit dem D. B. aren, ohne virulent zu sein, als Diphtheriebazillen anzuerkennen; ob er mit Recht hatte, ist eine andere Frage. Wenn man bedenkt, wie schwierig ist, in Fällen, wo nicht sehr viel D. B. oder D. B. verdächtige Stäbchen rhanden sind, eine Reinkultur zu erzielen, so wird man geneigt sein, an-nehmen, daß Tjaden doch in manchen Fällen echte, d. h. auch virulente B. unter den 42 Fällen in Händen gehabt hat. Tjaden nimmt ferner

1) Diese Zahl bezieht sich auf Kinder, die gleich bei der Aufnahme ins Spital ıtersucht wurden.

an, daß keiner dieser 42 Fälle als Verbreiter von D. B. angesehen werde
kann, eben weil es entweder keine oder avirulente D. B. waren und Tjade
meint auch, daß Träger von avirulenten D. B. als Infektionsverbreiter nicl
in Betracht kommen können. Das mag ja richtig sein, daß avirulente D. I
keine Diphtheriekrankheit hervorrufen können, aber es ist doch sehr fra
lich, ob unter diesen 42 Fällen wirklich kein Träger virulenter D. B. wa

In unsern zahlreichen Untersuchungen haben wir so viele Fälle vo
Weiterverbreitung der Diphtherie durch gesunde Bazillenträger beobachte
können, daß es wohl als sicher gelten kann, daß D. B.-Träger ebenso leicl
von gesunden Bazillenträgern als von Kranken ihre D. B. erhalten habe
können. Wie erwähnt stehen unsere Befunde in völligem Widerspruch z
denen von Scheller und Tjaden. Wir fanden einmal, daß 6 Familie
mitglieder einer Diphtheriekranken ausnahmlos bazillenfrei waren, ande
Male, daß gesunde Bazillenträger ohne jeglichen Zusammenhang m
Diphtheriekranken vorkommen. Es können also die gegenteiligen B
hauptungen abgelehnt werden. Es wäre auch gar nicht einzusehen, waru
ein Bazillenträger nur von einem Diphtheriekranken seine Bazillen bezoge
haben sollte. Es kann eben ein gesunder Bazillenträger b
anderen eine Diphtheriekrankheit hervorrufen, aber auc
den inaktiven Parasitismus, d. h. also er kann durch A
steckung andere zu gesunden Bazillenträgern machen, ebens
kann selbstverständlich der Kranke einen anderen durc
Ansteckung krank oder auch zum gesunden Bazillenträge
machen.

Der Zusammenhang mit einer Epidemie ist, wie leicht begreiflic
auch von Bedeutung und ist letzten Endes nichts anderes als eine Häufun
von Diphtheriekranken. Den Einfluß einer Epidemie auf das Vorkomme
der Bazillenträger ersieht man aus einer Übersicht über die gesunde
Bazillenträger von Saquépée, wenn auch Neisser und Gins die Zahle
mit Ausnahme der letzten für zu hoch halten, da letztere nicht den unitar
schen Standpunkt des französischen Autors teilen. Zusammenstellun
Saquépées:

1. In diphtheriefreien Gegenden sehr wenig oder gar keine Bazille
träger, 2. in endemisch befallenen Gegenden 4—8%, 3. in allgemeine
Krankenhäusern 12%, 4. bei Endemie und Epidemie unter größeren G
meinschaften 12—14%, 5. bei Endemie und Epidemie in Schulen 20—25%
6. in der unmittelbaren Umgebung von Kranken 30—35%.

Für den Einfluß einer Epidemie auf die Größe der Zahl der Bazille
träger sprechen auch die Befunde von Funkhouser, der bei Beginn d
Epidemie 73% Bazillenträger fand, die schließlich mit Erlöschen d
Epidemie auf 0% zurückgingen.

ad 5. Es wäre noch der letzte Punkt zu besprechen, nämlich d
Einfluß der Jahreszeit auf die Häufigkeit des inaktiven Parasitismus. Da
die Häufigkeit der Diphtheriekrankheit von der Jahreszeit abhängt, i
längst bekannt. Daß aber auch die Zahl der Bazillenträger, also auch d
inaktive Mikroparasitismus in seiner Häufigkeit Schwankungen unterworfe
ist, die anscheinend mit der Jahreszeit in Zusammenhang steht, darauf ha
erst Wiltschke aus unserer Klinik hingewiesen. Nur aus einer Arbe

von Klinger und Schoch sind derartige Schwankungen ersichtlich, ohne daß diese Forscher Schlüsse daraus gezogen hätten.

Bevor wir auf diese Frage des Näheren eingehen, soll hier die Technik unserer Untersuchungen genauer beschrieben werden. Es wurden die Proben mit den gebräuchlichen sterilen Tupfern entnommen, auf Röhrchen mit Löfflerserum ausgestrichen und nach 24 Stunden untersucht. Zur Färbung wurde nur die Neissersche Doppelfärbung benutzt, da sie sich am besten bewährt hat. Als D. B. wurden alle jene Stäbchen angesprochen, die nach der Neisserschen Doppelfärbung deutlich Polkörperchen zeigten und nach ihrer Form und Lagerung als solche erkenntlich waren, wobei auch auf die verschiedene Größe der einzelnen Stäbchen Gewicht gelegt wurde. Natürlich ist damit kein vollgültiger Beweis erbracht, daß wirklich alle diese Stäbchen echte D. B. waren, aber es besteht doch die größte Wahrscheinlichkeit, da ja nach Kontrolluntersuchungen von Neisser und von Schmitz zur Diagnose D. B. praktisch die Form und Lagerung und das färberische Verhalten der Stäbchen bei der Neisserfärbung vollständig genügen. Ein recht hemmender Umstand für das einwandfreie Arbeiten mit dem D. B. ist die Schwierigkeit, ihn in denjenigen Fällen rein zu züchten, wo neben ihm reichlich andere Mikroben auf dem Nährboden aufgegangen sind oder er nur spärlich in der Kultur nachweisbar ist. Nur in einem sehr geringen Prozentsatz solcher Fälle gelang uns die Reinzüchtung. Der begreifliche Einwand, daß man dann auch nicht mit Sicherheit behaupten könne, daß die unter anderen aufgegangenen Bakterien zu findenden Stäbchen D. B. sind, ist nicht zu widerlegen. In den wenigen Fällen jedoch, in denen die Reinzüchtung doch geglückt ist, hat sich immer das schulmäßige kulturelle Verhalten und sehr oft die Toxizität des betreffenden Stammes nachweisen lassen. Es kann daher doch wenigstens mit großer Wahrscheinlichkeit gesagt werden, daß in den Fällen, wo die Reinzüchtung nicht gelang, aber die schulmäßige Färbung und das morphologische Verhalten da war, wirklich echte D. B. vorgelegen haben.

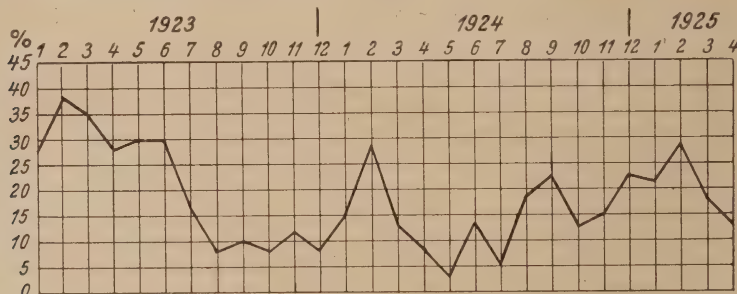
Unsere Untersuchungen über die Häufigkeit von Bazillenträgern wurden derart durchgeführt, daß von jedem Kinde, das in das Spital aufgenommen wurde, sofort ein Nasen-Rachenabstrich gemacht und kulturell untersucht wurde und daß außerdem wöchentlich sämtliche Kinder des Spitales, die Ärzte und Pflegerinnen auf D. B. untersucht wurden, mit Ausnahme der Kinder der chirurgischen Abteilung[1]). Unsere Untersuchungen erstrecken sich über einen Zeitraum von 32 Monaten, die Zahl der untersuchten Kinder des Spitales beträgt 1700, die Zahl der außerhalb des Spitales in Kinderheimen, Mütterberatungsstellen und Ferienheimen untersuchten Kinder 654, die Gesamtsumme daher 2354. Zum Vergleich mit unseren Zahlen seien die einiger anderer Autoren genannt. Beckler, Gillete und Parker verfügen über ein Material von 8389 Kindern, Ustvedt von 4277, Sholly von 1000 und Hellström einmal von 1011, das anderemal von 786 Fällen. Unsere Zahl hält also mit Ausnahme der ersten ganz gut einen Vergleich aus, noch dazu wenn man bedenkt, daß wir unsere Untersuchungen wöchentlich wiederholt, so daß wir die Zahl der Probeentnahmen mit rund 6000

1) Selbstverständlich wurden die Diphtheriekranken hier nicht mitverwertet.

beziffern können, eine Zahl, die uns berechtigt, Schlüsse mit hohem Wah scheinlichkeitswert aus unseren Befunden zu ziehen.

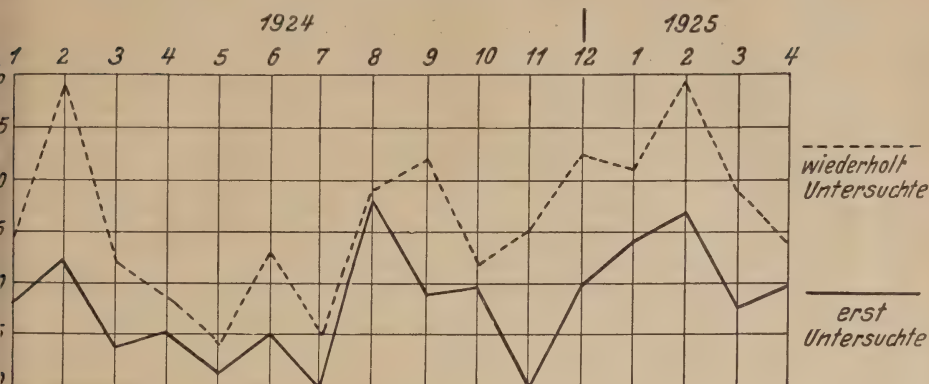
Bei den diphtherieunverdächtigen Kindern, die bei ihrer Aufnahm in das Spital sofort untersucht wurden, ergaben sich im Durchschnitt 6,5% Bazillenträger. Wenn man die Kinder dem Alter nach in 2 Gruppen trenn und zwar in Kinder bis zum dritten Lebensjahr und in größere Kinde so findet man, daß die Kleinkinder fast doppelt soviele positive Resulta ergeben, als größere Kinder; denn wir fanden bei Kleinkindern 8%, b größeren Kindern 5%, gleich bei der Aufnahme positiv. Dieses Verhältn besteht aber auch bei den wiederholten Untersuchungen, denn auch b den Kindern, die während ihres Spitalsaufenthaltes positiv wurden, konnte wir feststellen, daß von den Kleinkindern rund 11%, von den größere Kindern 4% vorübergehend zu Bazillenträgern wurden. Diese Tatsac kann man sich vielleicht so erklären, daß in diesem Alter eine erhöh Disposition zum Beherbergen der D. B. besteht. Vielleicht aber beru diese erhöhte Disposition der Kleinkinder und die verminderte der größer auf Immunisierungsvorgängen.

Wie schon erwähnt, scheint die Jahreszeit bzw. die Witterung ein großen Einfluß auf die Häufigkeit des Vorkommens von Bazillenträgern haben. Wir konnten durch 2¼ Jahre diese Schwankungen beobacht und geben sie in folgender Kurve wieder.

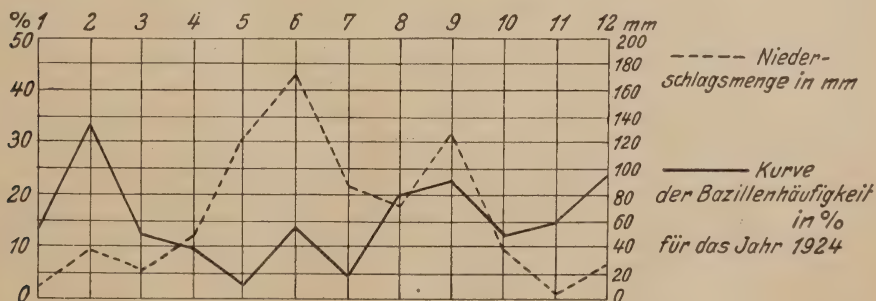


Daraus ist ersichtlich, daß in Graz die höchste Zahl der D. B.-Träg durch 3 Jahre jedesmal im Februar zu finden ist, und zwar betrug sie 19 38%, 1924 und 1925 rund 28%. Während wir 1923 die niederste Zahl August und Oktober hatten (7½%), finden wir sie im Jahre 1924 im M (1½%), worauf sie im Juni auf 14% anstieg. Diese Schwankungen find wir aber auch, wenn wir nur die Erstuntersuchungen in Betracht zieh das sind also die positiven Befunde bei nicht Di-kranken Kindern, die glei bei ihrer Spitalaufnahme untersucht wurden. Wir geben sie in folgen Kurve wieder (s. S. 129):

Es zeigt sich ein deutlicher Parallelismus der beiden Kurven, was a leicht erklärlich ist, denn je mehr Bazillenträger ins Spital aufgenomm werden, desto größer ist die Möglichkeit einer Ansteckung. Nur zeigt di Kurve das Maximum der Häufigkeit im Jahre 1924 nicht im Febru sondern im August, worauf wir noch zurückkommen werden, doch ist a hier deutlich eine stärkere Häufigkeit im Februar der Jahre 1924 und 19 festzustellen.



Wie sind nun diese Schwankungen in der Bazillenhäufigkeit zu er- ·en? Wir sahen auffallend geringe Werte im Herbst und Winter 1923, ırend wir in derselben Zeit des Jahres 1924 doppelt so hohe Werte ten, ferner sahen wir im Juni 1924, nachdem die Kurve im Mai bereits Minimum erreicht hatte, eine neue Zacke. Wiltschke hat in seiner en Mitteilung bereits darauf hingewiesen, daß die Kurve des Jahres 1923 pisch sein dürfte, da die Morbidität in den vorher gehenden Jahren in en Monaten bedeutend höher war und daher auch die Bazillenhäufigkeit größere gewesen sein dürfte und führte diesen atypischen Befund darauf ick, daß dieser Winter besonders milde und trocken war. Unsere eren Untersuchungen haben diese Annahme bestätigt. Der Juni 1924 besonders niederschlagsreich und das dürfte wohl die Ursache für die ahme der Bazillenträger gewesen sein. Wir haben, um einen näheren blick in den Einfluß der Witterung zu bekommen, die monatlichen eorologischen Schwankungen des Jahres 1924 mit unserer Kurve der illenträger verglichen, und zwar Bewölkung, absolute Feuchtigkeit, nenbestrahlung und Niederschlagsmenge. Nur letztere läßt einen Ein- auf die Häufigkeit des Vorkommens von Bazillenträgern erkennen.



Aus der Kurve ist ersichtlich, daß Niederschlagsmenge und Häufigkeit Bazillenträger bis zu einem gewissen Grade Hand in Hand gehen. Daß Niederschlagsmenge allein die Ursache der Schwankungen ist, ist natür- nicht anzunehmen. Wir wollen in Kürze noch eine Beobachtung wieder-

geben, die uns auch für den Einfluß der Feuchtigkeit zu sprechen schein In dem Kindererholungsheim St. wurden am 27. August 1924 100 Kind im Alter von 5—15 Jahren auf D. B. untersucht und es wurden bei 12 Ki dern D. B. nachgewiesen. Dieses Erholungsheim besteht aus einem Gut haus, das auf der Anhöhe liegt, und durch seine trockene und sonnige La ausgezeichnet ist, und einem Bauernhaus, das unten im Talgraben lieg wenig Sonne hat und feucht ist. Es zeigte sich nun, daß von den 12 Bazille trägern 11 im Bauernhause waren (50 Kinder), während nur einer aus de Gutshause (ebenfalls 50 Kinder) stammt. Man könnte einerseits dar denken, daß es sich um eine Hausinfektion gehandelt hat, d. h. daß d D. B. in den Ritzen des Fußbodens und der Wände vorhanden waren u durch sie soviele der Kinder angesteckt wurden, anderseits daran, daß i Bauernhaus von vornherein mehr Bazillenträger mit reichen Bazillen v handen waren. Das erstere ist unwahrscheinlich, da es ja bekannt ist, d die D. B. außerhalb des Organismus keine besondere Lebensfähigkeit b sitzen, wenn sie auch unter besonderen Umständen — Dunkelheit u Feuchtigkeit — auch durch längere Zeit vermehrungsfähig bleiben. D letztere ist wahrscheinlich, erklärt aber immer noch nicht den groß Unterschied zwischen den beiden Gebäuden. Untertags waren die Kind beider Gebäude entweder im Freien oder in den Spielräumen zusamme Wir glauben daher, daß der Mangel an Sonne und die dadurch beding Feuchtigkeit des Hauses einen ungünstigen Einfluß auf die Kinder ausül und sie für das Beherbergen von D. B. empfänglicher machte.

Noch eine Beobachtung wollen wir hier anführen. In einem Kind erholungsheim in Obersteiermark, das durch seine sonnige Lage aus zeichnet ist, erkrankte ein Kind an einer bakteriologisch nachgewiesen Diphtherie. Die Kinder wurden vom Hausarzte prophylaktisch immu siert und das kranke Kind isoliert. Es wurde nun die Anstalt auf Bazill träger untersucht. Die Untersuchung umfaßte 5 Erwachsene, 28 Hei kinder und 2 Kinder des Gärtners, die mit den Heimkindern in Berühru kamen. Von den Heimkindern waren 2 Bazillenträger, darunter der Bru des Erkrankten, außerdem ein Kind des Gärtners. Eine Nachuntersuchu nach ungefähr 3 Wochen hatte bei allen Kindern einschließlich des kra gewesenen Kindes ein negatives Resultat. Wir sehen, trotz Erkrankung einem Erholungsheim bei 30 Kindern nur 3 Bazillenträger, die innerh von 3 Wochen ihre Bazillen verloren hatten. Man könnte daraus auf d günstigen Einfluß der sonnigen Lage des Heimes schließen; bemerkensw wäre noch, daß die Fenster der Schlafräume auch bei Nacht geöffnet war so daß reichlich frische Luft zur Verfügung stand.

Es ist naheliegend, diese Beobachtungen in Zusammenhang zu bring mit der ärztlich längst verbreiteten Meinung, daß das trockene kalte Wet der Verbreitung der Erkrankungen aller Art u. a. auch der Verbreitu der Diphtherie ungünstig, feuchtes, wenn auch mildes Wetter günstig Wiltschke hat zwischen der Häufigkeit der Erkrankung und der Häuf keit der Bazillenträger einen Parallelismus gefunden. Wenn wir auch das Jahr 1924 das nicht bestätigen konnten, so bleibt doch jedenfalls Tatsache bestehen, daß D. B.-Träger bei feuchter Witterung viel häufi zu beobachten sind als bei trockener und die ärztliche Erfahrung ble

enso bestehen, daß bei feuchtem Wetter manche Infektionskrankheiten ıch die Diphtherie) häufiger sind, als bei trockenem.

Wenn auch diese hier mitgeteilten Beobachtungen kein absoluter weis für die von uns vermuteten Zusammenhänge bringen, kann man ch immerhin die Arbeitshypothese aufstellen, daß unter dem Einflusse r Witterung die Disposition sich ändert und sich einerseits die Neigung m inaktiven, anderseits auch die Neigung zum aktiven Parasitismus unter m Einfluß feuchter Witterung bzw. geringer Sonnenbelichtung erhöht.

Da es sich bei den ins Spital aufgenommenen Kindern vorwiegend um nder der Stadt Graz handelte, wurden auch Untersuchungen in der ovinz vorgenommen, um ein Bild über das Vorkommen von Bazillengern in ländlichen Bezirken zu erhalten, und zwar wurden Mütteratungsstellen herangezogen.

	Zahl der Untersuchten	Zahl der Positiven		Zahl der Untersuchten	Zahl der Positiven
rau	49	1	Leoben	44	3
Landsberg	40	7	Judenburg	20	1
ttenmann	40	0	Stainz	11	1
iz	10	0	Köflach	23	2
ıck	30	5			

Die kleinen Zahlen der einzelnen Orte besagen nicht viel, wenn wir r die Gesamtsumme in Betracht ziehen, so sehen wir, daß von 267 ıdern 20 Bazillenträger waren, das sind also 7,6%. Vergleichen wir ı dieses Ergebnis mit den Befunden bei den Erstuntersuchungen in ız, so sehen wir, daß kein Unterschied zwischen Graz und den ländlichen eführten Orten besteht, denn in der Provinz fanden wir 7,6%, in Graz chschnittlich 6,5% Bazillenträger. Die Untersuchungen in 2 Grazer derheimen auf das Vorhandensein von Bazillenträgern zeigten in dem n Heim bei 47 Kindern 2 (4,2%), in dem anderen bei 58 Kindern 5 %) positive Kinder. Es hat sich also bei den Untersuchungen in der vinz, verglichen mit den Untersuchungen in Graz, kein wesentlicher erschied ergeben.

Wir hatten auch Gelegenheit zu beobachten, daß die D. B. auch in nächsten Umgebung des Kranken fehlen können.

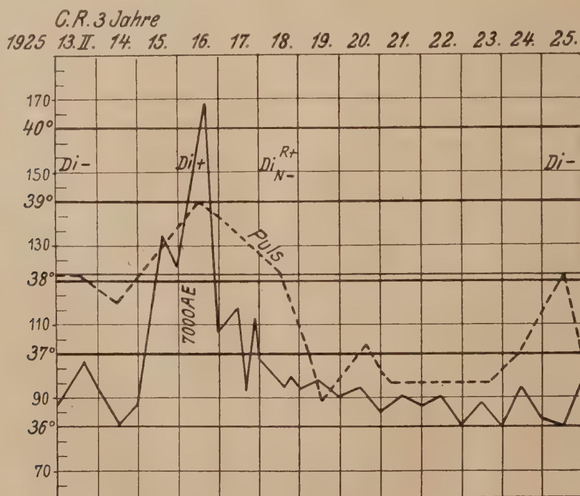
Eine an Diphtherie erkrankte Pflegeschülerin wurde nach Schwinden der ischen Erscheinungen von der Isolierstation entlassen, trotzdem noch D. B. ıweisbar waren. Sie teilte das Zimmer mit noch 3 Pflegeschülerinnen. Diese hülerinnen wurden täglich durch ungefähr 10 Tage auf das Vorhandensein D. B. untersucht, doch konnten solche nie nachgewiesen werden. Ein anderer : in einer Familie war ein 12jähriges Mädchen an einer Rachendiphtherie ankt. Es konnte nun trotz zweimaliger Untersuchung weder bei den Eltern ı bei den 4 Geschwistern des Kindes D. B. gefunden werden. Es gelingt auch in der nächsten Umgebung von Diphtheriekranken nicht immer, DB. zuweisen. Daß die Umgebung nicht infiziert worden wäre, ist nicht anhmen, wir glauben, daß eben auch zum Beherbergen von D. B. eine gewisse osition vorhanden sein muß.

Wir sahen bei unseren Untersuchungen an Ärzten und Pflegerinnen, ın gleicher Weise wie bei den Kindern vorgenommen wurden, daß der

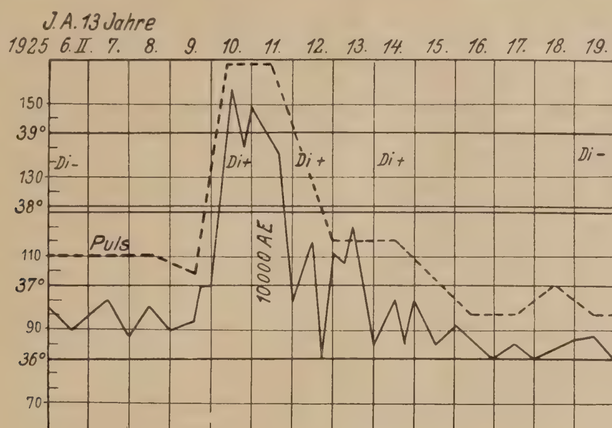
eine Teil immer wieder gelegentlich D. B. auf ihren Schleimhäuten herbergt, der andere nicht, obwohl alle die gleiche Gelegenheit hatt sich zu infizieren. Von 36 Ärzten und Pflegerinnen wurden Verlaufe dieser Untersuchungen 23, d. i. $^{2}/_{3}$ für längere od kürzere Zeit positiv. Wir sehen also, daß auch Erwachsene, wenn Gelegenheit zur Ansteckung haben, in einem größeren Prozentsatz Bazillenträgern werden können.

Aktiver Parasitismus (Diphtheriekrankheit) als Folge der Ansteckun

Es ist sehr schade, daß wir in den meisten Fällen bei unse Beobachtungen den Infektionstag nicht kennen, mit Ausnahme von experimentellen Beobachtungen. So können wir denn über das gewö liche Inkubationsstadium nichts Sicheres aussagen. Es ist sehr wa scheinlich, daß die Inkubationszeit bei der Diphtherie sehr wechselnd s kann. Wir haben in unwiderleglicher Weise durch das Experiment klinische Beobachtung erhärten können, daß die Inkubationszeit bei Diphtherie unter Umständen nur 24 Stunden beträgt, aber wahrschein kann die Inkubation auch viel länger dauern. So sehen wir auf unse Freiluftstation ein Kind am 11., eines am 21. und eines am 28. Tage n der erstgegebenen Infektionsgelegenheit erkranken; freilich wissen nicht, ob die erste Infektionsgelegenheit auch wirklich zu einer Infekt geführt hat. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß ein Individuum oft viele Tage, möglicherweise auch Wochen, nachdem es angesteckt erkrankt, nachdem es vorher gesunder Bazillenträger war. Unter irge einem Einflusse ist der inaktive Parasitismus aktiv worden. Wir haben aber leider keinen einzigen Fall beobachten kön der diese Vorstellung hätte erhärten können. Gewöhnlich hat sich geze daß die Kinder vor der Erkrankung D. B.-frei waren, um dann plötz zu erkranken. Hier 2 Beispiele.



C. Rudolf, 3 Jahre alt. Am 16. 2. unter plötzlichem hohem Fieber an einer Angina diphtherica erkrankt: an beiden Tonsillen links mehr als rechts schmutzig graue Belege und Schwellung der Halsdrüsen. Die Belege nahmen an Dicke und Ausdehnung zu, die Temperatur stieg auf über 40°; 7000 A. E. intramuskulär. Am 18. 2. noch Belege aber rasche Entfieberung zur Norm. Am 23. 2. Rachen o. B. Diese Beobachtung zeigt, daß eine schwere Diphtherie plötzlich ohne prodromales Fieber entstehen kann, 2 Tage vor der Erkrankung keine D. B. nachweisbar.



J. A., 13 Jahe alt, 10. 2. 25. Temperaturanstieg bis 39,6, an den unteren Polen der Gaumentonsillen schmutzig weiße Belege. Besonders starker Belag rechts, starke Schluckbeschwerden. 11. 2. auch links ein weit ausgebreiteter schmutziggelber Belag, der die ganze Tonsille und den weichen Gaumen überzieht. Beiderseitige starke schmerzhafte Schwellung der Unterkieferwinkeldrüsen. 10000 A. E. 14. 11. Entfiebert, der Belag rechts geschwunden, links im Ablösen begriffen, Schwellung der Tonsillen und Drüsen zurückgegangen. 23. 2. Rachen noch etwas gerötet, kein Belag. Auch in diesem Falle plötzliche Erkrankung mit ausgebreiteten Belegen, 4 Tage vorher sind noch keine Bazillen nachweisbar, die Temperatur steigt ohne Warnungszeichen etwaiger subvebriler Zacken auf 39,6°.

Wir haben gesehen, daß nach der Ansteckung viele Menschen D. B.-Träger werden, oft selbst durch längere Zeit, ohne deswegen zu erkranken. Andere wieder werden nicht einmal D. B.-Träger. Einmal also hat die Ansteckung gehaftet, ein anderesmal wieder nicht. Die Haftung allein genügt noch nicht zur Erkrankung und es ist eine unrichtige Ausdrucksweise, wenn man von einer Haftung einer Ansteckung nur dann sprechen zu sollen glaubt, wenn eine Erkrankung eintritt. Es müßte aus Gründen der Logik abgelehnt werden, wenn man das Wort Haftung nur für Erkrankungsfälle reservieren sollte. Die Ansteckung haftet nicht, wenn der Betreffende nicht D. B.-Träger wird, auch nicht für kurze Zeit, sie haftet, wenn er D. B.-Träger wird oder gar erkrankt. Wovon hängt es nun nach Haftung der Ansteckung ab, ob jemand diphtheriekrank wird oder nicht? Dazu gehört, soviel wir annehmen dürfen, zuerst einmal, daß der betreffende Mensch toxinempfindlich (schick positiv) ist. Ob dies für jeden einzelnen Fall zutrifft, können wir nicht entscheiden. Jedenfalls müssen uns die Untersuchungen, über

die Haidvogl bereits berichtet hat, vorsichtig machen. Es wurde nämlich gefunden, daß Kinder mit klinischer Diphtherie gar nicht selten eine negative Schickreaktion zeigen. Beobachtungen über die negative Schickreaktion bei Diphtheriekranken hat auch Kochmann veröffentlicht. Seine Beobachtungen beziehen sich jedoch nur auf Kinder, die bereits vor der Diphtherieimmunisierung schicknegativ waren und im Anschlusse an die aktive Immunisierung erkrankten. Kochmann faßt diese Erscheinung als durch Antitoxinverbrauch infolge der Toxineinspritzung hervorgerufen auf. Ob diese Erklärung richtig ist, läßt sich heute noch nicht entscheiden.

Jedenfalls zeigen Haidvogls Beobachtungen, daß entgegen der heutigen Anschauung **Diphtheriekranke Antitoxin in ihrem Blute haben können,** wie eben aus der Schickreaktion und aus der unmittelbaren Blutuntersuchung hervorgeht. Solange nicht entschieden ist, ob solche diphtheriekranke schicknegative Kinder bereits vor der Erkrankung negativ waren, oder erst während der Erkrankung wurden, hat es keinen Sinn, sich allzu viel in theoretische Überlegungen einzulassen. Jedenfalls ist der alte Satz richtig, daß Antitoxinbesitzer (Schicknegative) viel seltener an Diphtherie erkranken, als Antitoxinlose (Schickpositive). Wir verweisen hier auf die schon mitgeteilte Beobachtung auf der Freiluftstation, wo von 17 Kindern 4 schickpositiv waren, von denen 3 erkrankten, während von den 13 Schicknegativen keines erkrankte, obwohl sich manche von ihnen sicher angesteckt hatten, wie bewiesen werden kann durch die Tatsache, daß sie D. B.-Träger wurden. Also zur Erkrankung ist außer der Ansteckung auch noch eine entsprechende Toxinempfindlichkeit wahrscheinlich notwendig. Auf der andern Seite aber genügt Ansteckung und selbst hohe Toxinempfindlichkeit keineswegs, um eine Erkrankung sicher hervorzurufen, denn wir sehen oft genug schickpositive Kinder zwar Bazillenträger, aber nicht krank werden. So fanden wir, daß von den 4 schickpositiven Kindern der Freiluftstation zwar 3 erkrankten, eines aber nicht, obwohl es durch längere Zeit D. B.-Träger wurde. Und zwar beherbergte es durch fast 3 Wochen D. B., ohne die geringsten Krankheitserscheinungen zu zeigen, selbst die fachärztliche Untersuchung des Nasenrachenraums ergab keine Anhaltspunkte für eine Erkrankung.

Es ist also zur Erkrankung noch eine unbekannte Größe notwendig — vielleicht sind es auch deren mehrere — damit eine Erkrankung entstehen kann; weder die Ansteckung noch die Toxinempfindlichkeit genügt zur Erkrankung. Diese unbekannte Größe nennt man allgemein Disposition oder Anfälligkeit.

Wahrscheinlich bleibt zu Recht bestehen, daß zur Nichterkrankung trotz stattgehabter Haftung ein gewisser Grad von Toxinunterempfindlichkeit notwendig ist, was wir mit der Schickreaktion oder mit der Antitoxinuntersuchung des Blutes messen können. Hier muß auch auf unsere experimentellen Untersuchungen hingewiesen werden, aus denen hervorgeht, daß von 5 Kindern in 11 Ansteckungsversuchen 1 Kind erkrankte, das wohl schickpositiv war, daß von den anderen 4 Kindern in 6 Versuchen bei bestehender positiver Toxinreaktion 4 Bazillenträger wurden. In 4 Beobachtungen waren die Kinder mittlerweile schicknegativ geworden

l es entwickelte sich nach der Ansteckung dreimal inaktiver Parasitismus, einem Falle waren D. B. nicht nachweislich. Warum Toxinempfindliche ar Bazillenträger werden können, aber deswegen noch lange nicht ernken müssen, wissen wir nicht. Es war so schön und einfach, sich zu en: »infiziert sich der Schickpositive, so wird er krank, infiziert sich Schicknegative, bleibt er gesund". So einfach liegen aber die Dinge timmt nicht, wie wir gesehen haben. Wir haben geglaubt, die Ernkungen nach stattgehabter Ansteckung auf eine vorausgegangene wankung der Disposition, wie sie in den Beobachtungen unserer Klinik n Ausdruck gekommen und von Hamburger, Simchen und Wiltsch- veröffentlicht wurden, zurückführen zu können. Es konnte nämlich hgewiesen werden, daß Individuen einmal schicknegativ, dann wieder ickpositiv sein können, und daß dieser Tatsache die zweite an die Seite tellt werden kann, daß die Antitoxinauswertung beim selben Menschen verschiedenen Zeiten gelegentlich sehr große Unterschiede im Antiingehalt ergibt. Man muß sich also vorstellen, daß solche Menschen, denen aus irgendeinem Grunde der Antitoxingehalt auf 0 oder auf r geringe Werte herabgesunken ist, im Anschluß an Ansteckung ernken, wenn überdies noch das genannte X gegeben ist. Wir sind also nit noch nicht soweit gekommen, den Mechanismus der Diphtherierankung restlos zu erklären. Die Lehre von den Dispositionswankungen bzw. Antitoxinschwankungen hat uns wohl n Ziele nähergebracht, aber das Ziel ist noch nicht ercht. Wir kennen die Unbekannte noch immer nicht.

Bei den vielen Abstrichen, die gemacht wurden, ereignete es sich reiflicherweise gelegentlich, daß wir auch Kinder untersuchten, die ige Tage nach der letzten Untersuchung zufällig an einer klinischen htherie erkrankten. Es war nun auffallend, daß von ungefähr 50 solchen dern kein einziges in den letzten Tagen vor der Erkrankung D. B.-ger war. Freilich hätten wir die Untersuchung tagtäglich vornehmen ssen, wenn wir Genaueres hätten erfahren wollen, wann der Diphtherieillenbefund vor der Erkrankung positiv wird.

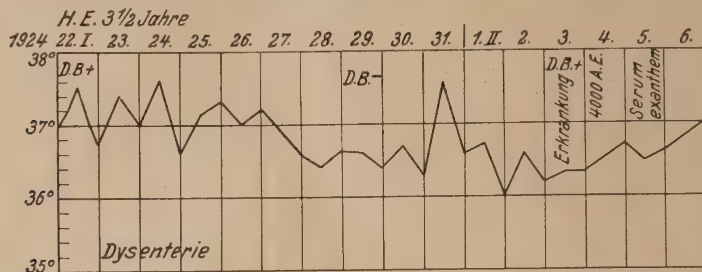
Ob nicht vielleicht ganz kurz vor der Erkrankung D. B. nachgewiesen den können, ist leider kaum jemals festzustellen, dazu wäre eben die iche Untersuchung zahlreicher Kinder notwendig. Dazu kommt, daß onders bei der Nasendiphtherie der Tag der Erkrankung gar nicht au festgestellt werden kann. So ereignete sich auch gelegentlich, daß ch bei dem ersten positiven Bazillenbefund nach länger dauernden ativen Ergebnissen zur gleichen Zeit klinisch ein blutigeitriger Ausfluß der Nase vermerkt wird. In diesen Fällen ist ja wahrscheinlich die endiphtherie bereits einige Zeit vorher „aktiv" geworden.

Nur in 2 Fällen konnte nachgewiesen werden, daß ein Bazillenger an Diphtherie erkrankte, aber auch in diesen Fällen war die e Untersuchung vor der Erkrankung negativ ausgefallen.

H. E., 3 Jahre alt, am 15. 1. 1924 aufgenommen mit Pertussis und Dysen-. 21. 2. Häufiger etwas heißerer Husten, leichte Rötung des Pharyngs. 3. 2. Kleine follikuläre Beläge auf beiden Tonsillen, kein Fieber, keine ntliche Störung des Allgemeinbefindens, D. B. positiv.

4. 2. Wegen des raschen Größerwerdens der Beläge auf beiden Tonsil
wurden 4000 A. E. in 3 Intervallen gespritzt.

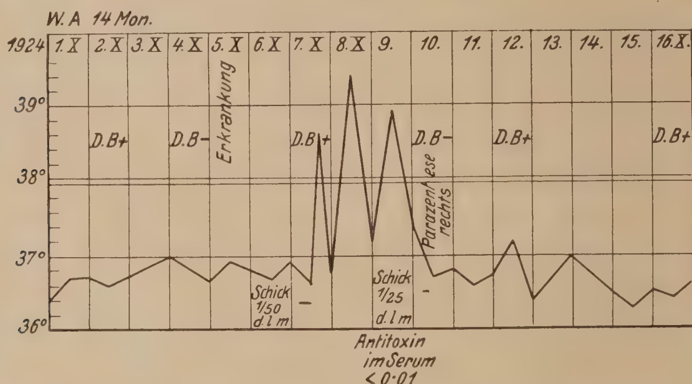
5. 2. Universelles aber ziemlich spärliches, morbilliformes Serumexanthe



W. A., 1 Jahr alt, Ekzem. Am 2. 10. D. B. positiv. Am 4. 10. D. B. nega
Am 5. 10. blutig eitrige Sekretion aus der Nase. Die Nasendiphtherie wurde v
Spezialisten (Prim. Dr. Krassnig) bestätigt.

Am 6. 10. schicknegativ, der Antitoxingehalt des Blutes betrug weniger
0,01 A. E. pro 1 ccm Serum.

Am 16. 2. 0,02 A. E. pro 1 ccm Serum.



Man hätte annehmen sollen, daß der Erkrankung ein mehrere T
dauerndes kulturell nachweisliches Stadium des inaktiven Parasitis
vorausginge. Genau das Gegenteil ist der Fall, wie aus unseren Beob
tungen hervorgeht. Niemals beobachteten wir nämlich, daß inakt
Parasitismus kurze Zeit vor der Erkrankung vorhanden war, so daß
uns schon die Hilfshypothese zurechtlegten, daß der D. B. die klini
Erkrankung dadurch bewirke, daß er, bisher nur an der Oberfläche
Schleimhaut befindlich, nun in die Tiefe aufgenommen wird, sich so
Nachweis entzieht und nur unter dem Epithel vorhanden, die Erkrank
vorbereitet.

So möchten wir es uns auch erklären, daß gar nicht so selten
klinischer Diphtherie der erste Bazillenbefund negativ ist, um 1—2 T
später positiv zu werden, was wir uns so zurechtlegen möchten, daß d
zu zartes Abstreichen von den zähen Membranen zu wenig D. B. auf
Tupfer gelangen, während ein 2 Tage später nach Beginn der Verflüssig
der Membran ebenso zartes Abstreichen doch einen positiven Be

ergibt. Dem entspricht auch die Tatsache, daß in vielen Fällen in der Membran die meisten Di.-Bazillen nicht an ihrer Oberfläche, sondern in den mittleren Schichten, manchmal sogar in den tiefsten Schichten, die der Schleimhaut zugekehrt sind, am reichlichsten gesehen werden; freilich ist das nicht immer der Fall. Bei manchen Membranen sind die Bazillen in den oberflächlichen Schichten reichlich. Leider konnten wir nicht eine größere Anzahl von Membranen daraufhin untersuchen, wir glauben aber, daß ein genaues Studium der Membranen von einzelnen Fällen in dieser Richtung unsere genaue Kenntnis auch über den Mechanismus und Biochemismus der Erkrankung vorwärtsbringen wird, besonders dann, wenn zu gleicher Zeit das kulturelle Verfahren mit besonderer Berücksichtigung der Reichlichkeit und der Virulenz der Bazillen und die Toxinempfindlichkeit bzw. der Antitoxingehalt festgestellt wird.

Weitere Folgen der Infektion.

Nachdem wir nun die 3 verschiedenen möglichen Folgen nach einer D. B.-Infektion (1. Ausstoßung und Zerstörung, 2. inaktiver Parasitismus, 3. Erkrankung = aktiver Parasitismus) besprochen haben, müssen wir uns auch noch mit der Frage beschäftigen, was geschieht weiter, nachdem eine dieser 3 Folgen eingetreten ist?

Wir wissen, daß es bei der Diphtherie sowohl zur Agglutinin- als auch zur Antitoxinbildung kommt, und man darf daher annehmen, daß im Anschlusse an die Ansteckung, nachdem eine der 3 besprochenen Möglichkeiten eingetreten war, sowohl Bildung, als auch Steigerung von Agglutinin, wie auch von Antitoxin stattfindet. Der erste diesbezügliche Versuch sprach auch sehr für diese Annahme. Hier war sowohl Agglutinin- als auch Antitoxinbildung (Steigerung) nachweislich. Es zeigte sich aber bald, daß die Verhältnisse nicht in jedem Falle so liegen; oft fanden wir eine Abnahme des Agglutinins oder des Antitoxins, dann wieder eine Zunahme, dann wieder ein Gleichbleiben im Anschlusse an die experimentelle Ansteckung. Vor allen Dingen ist die Agglutininbildung, soweit wir es heute beurteilen können, regellos, so daß wir, wie erwähnt, eine weitere Untersuchung in dieser Richtung aufgegeben haben. Aber auch beim Antitoxin hat sich eine Gesetzmäßigkeit in unseren Ansteckungsversuchen nicht ergeben.

Im Anschlusse an nichtexperimentelle, spontane Infektionen mit oder ohne Erkrankung fanden wir in Übereinstimmung mit anderen Autoren oft eine Zunahme des Antitoxingehaltes (gemessen durch direkte Bestimmung oder durch Toxinreaktion), sehr oft aber auch ein Gleichbleiben oder eine Abnahme des Antitoxins. Als Beispiel für das Negativwerden nach einer Erkrankung sei folgende Beobachtung angeführt:

Pflegerin W., 20 Jahre alt, am 25. 9. 1924, schickpositiv. A. T. des Blutes weniger als 0,002. Die Reaktion an der Teststelle R. J. 80 : 25 mm, an der Kontrollstelle R. J. 20 : 20 mm, am dritten Tag Reaktion an der Kontrollstelle abgeklungen, an der Teststelle unverändert.

Am 6. 11. 1924, an einer klinischen Diphtherie erkrankt, kulturell wurden D. B. nachgewiesen.

7. 11., schickpositiv. Antitoxin im Serum, weniger als 0,01. Auf diese Dosis ($^1/_{50}$ d. l. m.), die auch bei der Schickreaktion am 25. 11. verwendet wurde, trat eine starke Reaktion auf, und zwar sowohl an der Teststelle, wie auch an der

Kontrollstelle in Form von Rötung und Infiltration von 80 zu 120 mm, an der Teststelle mit einer zentralen tiefroten Färbung von 20 zu 20 mm, die an der Kontrollstelle fehlte, nach Abklingen der Pseudoreaktion, die bereits am dritten Tage geschwunden war, noch weiter bestand und mit Schuppung und Pigmentation abheilte. Wir dürften wohl nicht fehl gehen, wenn wir diese starke Reaktion mit der erfolgten Erkrankung in Zusammenhang bringen. Die Erkrankung heilte ohne Serum binnen 3 Tagen aus.

Am 16. 11. neuerdings an Tonsillen-Diphtherie erkrankt. Aufflammen der Schickreaktion vom 7. 11., mit zentraler Hämorrhagie. Auch diesmal heilte die Erkrankung ohne Serumapplikation aus. Die wieder aufgeflammte Reaktion ging in wenigen Tagen zurück.

28. 11. mit $^1/_{500}$ d. l. m. Diphtherietoxin intrakutan gespritzt, keine Reaktion.

1. 12. $^1/_{250}$ d. l. m. leichte Pseudoreaktion 10 zu 10 mm.

15. 12. $^1/_{50}$ d. l. m. nur geringfügige Pseudoreaktion.

6. 1. $^1/_{50}$ d. l. m. An der Test- und Kontrollstelle 20 zu 20 mm Rötung, am nächsten Tag Rötung und Infiltration nur an der Teststelle 40 zu 20 mm. Diese Reaktion war am folgenden Tage geschwunden, die Auswertung des Serums vom 6. 1. ergab eine Antitoxineinheit im ccm.

Die Pflegeschülerin wurde nun durchschnittlich einmal im Monat mit $^1/_{50}$ d. l. m. intrakutan gespritzt, doch blieb sie dauernd bis zum Verlassen der Klinik im Jänner 1926 schicknegativ.

Diese Beobachtung, mit Negativwerden der Toxinreaktion nach Spontanheilung, stellt wahrscheinlich die Regel dar. Ihr stehen aber die Fälle gegenüber, bei denen die stattgehabte Infektion und selbst Erkrankung keine Antitoxinbildung zur Folge hatten.

Dr. B. war im Februar und März durch 5 Wochen D. B. positiv und wies auch späterhin noch öfters in Nasen-Rachenabstrichen D. B. auf. Trotzdem war er noch im Herbst 1925 schickpositiv.

Frl. Sch. (21 Jahre alt) hat mit 6½ Jahren eine klinisch sichere Diphtherie durchgemacht, war im Jänner und Dezember 1925 vorübergehend Bazillenträgerin, ohne zu erkranken, und doch noch im März 1926 schickpositiv.

K. Im Jänner 1925 durch längere Zeit hindurch Bazillenträgerin. Am 20. 1. schickpositiv und blieb es auch während 6 Monate, d. i. bis zu ihrem Weggange von der Klinik.

Pfleg. H. erkrankte am 28. 6. 1925 an einer Tonsillendiphtherie. Im März 1926 noch schickpositiv.

Frl. Fr. 31. 3. schickpositiv, verspätete Reaktion, 28 zu 35 mm, zentralstarke Rötung 10 zu 10 mit einem blassen Zentrum von 4 zu 4 mm. Am 9. 4. an einer mittelschweren Diphtherie erkrankt, 10000 A. E. 30. 4. $^1/_{50}$ d. l. m. intrakutan, 30. 4. an der Teststelle 40 zu 30 mm Rötung und Infiltration, an der Kontrollstelle 20 zu 20 mm. 1. 5. Infiltration und Rötung 180 zu 120 mm, Zentralbildung einer Blase von 20 zu 20 mm, leichte Temperatursteigerung! Nach 3 Tagen Eintrocknen der Blase und allmählich Nachlassen der Schwellung und Abblasen der Reaktion.

Frl. St. Am 15. 12. $^1/_{50}$ d. l. m. intrakutan. 16. 12. An der Teststelle 30 zu 35, zentral 80 zu 20 mm, an der Kontrollstelle 40 zu 25, zentral 10 zu 10 mm. Rötung und Infiltrat. Am 17. 12. an der Teststelle 20 zu 20 mm, Kontroll 0. Am 24. 12. an Diphtherie erkrankt, Temperatur 39,8°, mäßig ausgebreitete Beläge an den Tonsillen, nach 6 Tagen ohne Serum geheilt.

In nebenstehender Tabelle sind die Schickreaktionen zusammenestellt, die während der Erkrankung an der Pflegerin gemacht wurden, und zwar wurden zur Anstellung der Reaktion $^1/_{100}$ und $^1/_{500}$ d. l. m. verwendet, während wir sonst zur Schickprobe $^1/_{50}$ d. l. m. verwendeten, und zwar deshalb, um stärkere Reaktionen zu vermeiden. Man sieht aus dieser Zusammenstellung die zunehmende Stärke der Reaktion und das Aufflammen der Schickreaktion vom 24. 12. 1925 am 6. 1. 1926, nachdem den

25.	26.	27.	28.	29.	30.	31.	1.I.26	2.	3.	4.	5.	6.	7.
0:18 0:18		$R_1$18:18 $J_1$18:18					$R_1$22:18 J 12:15			$R_1$22:18 J 0		$R_1$6:3 Jsp6:3 Rsp 22:18	
p :12)		Rsp 18:15 Jsp					Rsp.l. 16:14 Jsp			Rsp 14:12		Rsp 14:12 Jsp	
/100 .m.	R_1 15:12 J_1	R_1 18:18 J_1					R_1 16:14 Jsp			Rsp 16:14		Rsp 16:14 Jsp	
	1/500 d.l.m.	Rsp 15:15 Jsp	Rsp 18:15 Jsp				Rsp.l. 18:15 Jsp			Rsp.l. 15:14		Rsp.l. 15:14	
					1/500 d.l.m.	$R_1$25:18 $J_1$20:15	$R_1$22:15 J 20:12	R_1 22:15 Jsp13:2		Rsp 3:2 22:15 blasser Hof		Rsp 22:15 $R_1$2:2 zentral	
							1/500 d.l.m.	$R_1$15:14 J_1 9:9		$R_1$3:3		0	
											1/100 d.l.m.	$R_1$20:24 Rsp 20:60 J 27:36	$R_1$23:22 J_1 Rsp 45:55

'ag vorher ein Schick mit $^1/_{100}$ d. l. m. gemacht wurde. Die Pflegeschülerin ›lieb auch weiterhin schickpositiv, ohne jedoch, trotz gegebener Infektions- ;elegenheit, zu erkranken.

Es ist begreiflicherweise nicht leicht, eine große Anzahl von Diphtherie- ekonvaleszenten in derselben Weise fortlaufend zu untersuchen, weil sich ur selten jemand solche, immerhin nicht angenehme Untersuchung auf ie Dauer gefallen läßt. Diese hier mitgeteilte Beobachtung erscheint uns on grundsätzlicher Bedeutung, auch wenn wir ihr nicht viele ähnliche an ie Seite stellen können. Sie zeigt uns, daß die Di.-Erkrankung nicht mit ntitoxinbildung ausheilen muß, sondern oft trotz weiterbestehender selbst ochgradiger Toxinempfindlichkeit ausheilen kann. Diese, unsere Be- bachtung über die Spontanheilung der Di. ohne Antitoxinbildung ist öllig neu — soviel wir wissen — und hat wohl nichts zu tun mit den Be- bachtungen von Kassowitz, der Rezidiven längere Zeit nach Serum- pplikation gefunden hat. Früher hatte man sich wohl immer vorgestellt, aß die Spontanheilung der Di. ebenso, wie die Heilung durch passive nmunisierung immer mit Hilfe des Antitoxins geschieht. Das wäre ja uch bei unseren Befunden nicht unmöglich, wenn man sich vorstellt, aß hier das Antitoxin nur im Gewebe vorhanden war. Allerdings kommt ns diese Erklärung unwahrscheinlich vor, weil ja bei bestehender anti- ›xischer Gewebsimmunität doch die Toxinreaktion negativ sein müßte.

Es läßt sich hier daran denken, daß der Mechanismus der Heilung nicht er der antitoxischen, sondern der der anaphylaktischen Immunisierung t. Es läßt sich dann theoretisch eine starke Pseudoreaktion in solchen ällen erwarten, was in unserem Falle auch zutrifft, denn die Reaktionen om 5. und 6. 1. 1926 zeigen an den Kontrollstellen eine Schwellung und ötung im Ausmaße von 50 zu 60 bzw. 55 zu 45 mm. Wir haben starke

Pseudoreaktionen zwar in mehreren solchen Fällen beobachtet, möchten aber doch nicht das als eine allgemeine Regel aufstellen.

Wir sind nicht in der Lage, eine Statistik in dem Sinne zu bringen ob schickpositive Fälle nach der Erkrankung öfter schicknegativ werden als schickpositiv bleiben. Es ist gar nicht ausgeschlossen, daß das Negativ werden nicht die Regel ist, jedenfalls ist das Eine sicher, daß sehr häufig diejenigen Kinder, welche eine Di.-Ansteckung mit nachfolgendem latenten bzw. inaktivem Parasitismus durchmachen, aus Schickpositiven zu Schick negativen werden. Dafür brauchen wir wohl keine Beispiele anzuführen Das Material in dieser Richtung ist deswegen nicht so leicht in ausreichen dem Maße zu gewinnen, weil die meisten Di.-Kranken gespritzt werden und man daher oft viele Wochen warten muß, bis das artfremde Antitoxin ausgeschieden ist. Es eignen sich daher eigentlich nur die nichtgespritzten Fälle für diese Untersuchungen, gespritzte Fälle nur dann, wenn sie ers 3 Monate nach der Seruminjektion zur Untersuchung kommen.

Auch ohne nachweisbare Infektion können Individuen schicknegativ werden.

F. E., 13 Jahre alt, am 20. 10. 1924, schickpositiv, am 7. 1. 1925 schick negativ.

P. Karl, 12 Jahre alt, am 20. 11. 1924, schickpositiv, am 14. 1. 1925 schick negativ.

Bei beiden Kindern wurden während der Beobachtungsdauer ungefähr jede Woche einmal der Nasen-Rachenabstrich auf D. B. untersucht, der Befund war aber immer D. B. negativ. Freilich kann nicht ausgeschlossen werden, daß sie in der Zwischenzeit gelegentlich mit D. B. infiziert wurden und gerade nur wenige Tage zwischen 2 Untersuchungstagen D. B.-Träger waren oder daß sie nur so wenig D. B. beherbergten, daß sie nicht nach gewiesen werden konnten.

Diese Beobachtungen würden dafür sprechen, daß die Anschauung von v. Groer und Kassowitz richtig ist, welche annehmen, daß die Anti toxinbildung nicht eine Folge von D. B.-Infektion ist oder sein muß sondern möglicherweise als ein selbsttätiger, sogenannter Reifungsprozeß aufgefaßt werden darf. Wenn nun auch die letztgenannte Beobachtung in dem Sinne dieser Anschauung gedeutet werden könnte, so wollen wir doch auch die Bemerkung nicht unterdrücken, daß die D. B.-Untersuchung nicht oft genug gemacht wurde, um behaupten zu können, daß in der ganzen beobachteten Zeit tatsächlich keine D. B.-Ansteckung stattgefunden hat Immerhin kann man annehmen, daß die Schwankungen des Antitoxin gehaltes, von denen wir schon gesprochen haben, sowohl eine spezifisch als auch eine nicht spezifische Ursache haben können, das heißt, daß si entweder durch neue Ansteckung oder durch hypothetische Schwankunge der Globuline, die Antitoxinträger sind, hervorgerufen sein können, wobe wir eben annehmen, daß diese Globuline in ihrer Menge im Blute ab oder zunehmen können und damit zugleich auch das an ihnen haftend Antitoxin.

Wenn wir nun auch nicht experimentelle Beweise für das Schwanke verschiedener Globulinfraktionen anführen können, so sind wir doch i der Lage, einerseits mit der Schickreaktion, anderseits mit der direkte

ıtersuchung des Antitoxingehaltes nachzuweisen, daß bei manchen Menıen doch oft recht beträchtliche Schwankungen des Antitoxingehaltes rkommen können.

Diese Feststellung der Antitoxinschwankungen als teilweise Ursache r Dispositionsschwankungen scheint uns von grundsätzlicher Bedeutung sein. Die übrigens bereits erwähnten Antitoxinschwankungen finden r nicht bei allen untersuchten Menschen, aber doch immerhin ziemlich oft.

Pflegerin W., 6. 11. 1924. Sichere Tonsillendiphtherie; in wenigen Tagen ne Serum geheilt.

7. 11. schickpositiv, Antitoxingehalt weniger als 0,01. Vom 10.—16. keine B. nachweisbar. 16. 11. wieder an Di. erkrankt, Aufflammen des Schick t zentraler Hämorrhagie.

15. 12. schicknegativ.

7. 1. 1925 schicknegativ, Antitoxin 1 A. E.

13. 3. schicknegativ, Antitoxin 0,06.

Antitoxingehalt in 1 ccm Serum.

Name	28. XI.23.[1])	6.XII.23.	8. I. 24.	12.XII.24[1])	20. XII. 24.	16.II.25.
. L. 4 J.	0	> 0,25	< 0,05	0,43	0,2	0,13
	16. XI. 23.	17.XI.23.[1])	12.II.24	12.XII.24[1])	20. XII. 24	
. S. 7 J.	0,02	0,01	> 0,75	1,1	0,7	

Antitoxingehalt in 1 ccm Serum.

Name	31.XII.24.	28.II.25.	30.III.25.	2.IV.25.	15.XI.24.	15.III.24.
H. 50 J.	0,5	0,06	0,14	0,1		
H. 28 J.		< 0,002	< 0,002	< 0,002		
D. 27 J.		0,12	0,12	0,16		
H. 36 J.					> 0,018	< 0,002

Schickreaktion.

Name	19.XII.24.	18.II.25.	18.IV.25.	15.IX.25.	6. X. 24.
Pl. 12 J.	—	+	—		
P. 15 J.	—	+			
Gr. $3^1/_2$ J.				—	+

1) experimentelle Infektion.

Die Schwankungen des Antitoxingehaltes konnten wir einerseits nachısen durch die direkte, wenn auch zeitraubende Methode der Antitoxintimmung aus dem Blute und durch die indirekte einfache Methode der xinprüfung durch Einspritzung nach Schick. Aus den Beobachtungen ibt sich unter anderem auch die Erklärung, warum die Di. manche nschen zweimal und noch öfter im Leben befallen kann.

Wodurch die Schwankungen des Antitoxingehaltes hervorgerufen den, das wissen wir nicht, aber jedenfalls kommen sie gar nicht so selten

vor und es ist klar, daß wir geneigt sind, der Abnahme des Antitoxingehal aus irgendeinem Grunde einen wesentlichen Anteil an dem Mechanism der Erkrankung zuzuschreiben. Wir würden uns also vorstellen, daß, we sich jemand gerade im Zustande einer geringen Toxinempfindlichkeit l findet, also schicknegativ ist, trotz Ansteckung nicht erkrankt. Dersel Mensch wird jedoch erkranken können, wenn er gerade im Zustande ein negativen Antitoxinschwankung angesteckt wird, also wenn er schic positiv geworden ist. Für diese Annahme können wir einen, freilich n einen Fall anführen.

Gr. K., 3½ Jahre alt, Skrophulose, war am 15. 9. 1924 schicknegativ, a 3., 10., 20. und 25. 9. D. B. negativ, am 3. 10. D. B. positiv. Die Schickreakti die am 6. 10. wieder angestellt wurde, fiel nun positiv aus. Am 8. 10. war d Rachenabstrich reichlich D. B. positiv, auf der rechten Tonsille follikuläre Bele

Daß es sich hierbei nicht um ein verschieden wirksames Toxin gehand hat, oder besser gesagt, die Toxinlösung, die am 15. 9. verwendet wurde, v wirksam war, geht daraus hervor, daß andere Kinder, die am gleichen Ta mit der gleichen Lösung geschickt worden waren, positive Schickreaktionen a wiesen.

Man könnte in diesem Falle annehmen, daß die negative Antitox schwankung eingetreten ist, weil eine Infektion stattgefunden hat. D ist gewiß nicht auszuschließen, es ist aber auch möglich, daß die negati Antitoxinschwankung eine zufällige, d. h. aus unbekannten Gründen en standen war und zufällig mit einer Ansteckung zusammenfiel.

Die Ursachen der Antitoxinschwankungen können verschieden se Zuerst wollen wir betonen, daß es Menschen ohne Schwankungen (bzw. n geringen Schwankungen) und Menschen mit starker Schwankungsneigu zu geben scheint. Vielleicht werden sich auch hier einmal an einem groß Untersuchungsmaterial gewisse Menschentypen aufstellen lassen. Es möglich, daß die Witterung, daß körperliche oder geistige Überanstrengu daß Aufregungen und endlich besonders, daß es Verkühlungsfaktoren sin welche Antitoxinschwankungen hervorrufen können, und es ist endli möglich, daß D. B.-Infektionen solche Schwankungen hervorrufen könne Ob die negative Antitoxinschwankung — durch Infektion hervorgeruf — häufig vorkommt, erscheint fraglich. Jedenfalls haben unsere eigen experimentellen Infektionsbeobachtungen ergeben, daß nach Infektion sowohl eine Steigerung, als auch eine Abnahme, als auch ein Gleichbleib des Antitoxingehaltes eintreten kann. Nach den heute geläufigen V stellungen könnte man sich denken, daß auf die Infektion, die gewöhnli eine Reinfektion ist, zuerst eine Abnahme des Antitoxins (negative Pha und bald darauf eine reaktive Zunahme (positive Phase) auftritt.

Wir kommen nun zum Schlusse unserer Arbeit unter Verwendung d bisher bekannten Tatsachen und Anschauungen, sowie unter Verwendu unserer Beobachtungen zu folgendem:

Da außerordentlich viele Menschen zeitweise virulente D. B. auf ih Nasen- und Rachenschleimhaut beherbergen, ist die Gelegenheit zur Trö chen- und Schmierinfektion reichlich gegeben und es kann als sicher gelte daß in der Stadt sehr viele Menschen sich häufig mit mehr oder wenig virulenten D. B. anstecken. Wir kommen zu dem Satze: Die D. I Ansteckung ist etwas sehr häufiges, wenn wir etwas übertreibe alltägliches.

Die Antwort auf die Ansteckung ist keineswegs immer, ja sogar nur selten eine richtige Di.-Krankheit. Besonders sei betont, daß selbst die Ansteckung mit hochvirulenten Bazillen nicht zur Erkrankung führen muß. In den meisten Fällen werden die Menschen ıach der Ansteckung für ganz kurze, manchmal auch für lange Zeit D. B.-Träger und können die Ansteckung weiterverbreiten, ohne zu erkranken. Wir sprechen von einem inaktiven Parasitismus, weil in diesen Fällen ler D. B. als harmloser, also inaktiver Parasit auf den Menschen lebt. Dabei tritt er oft wohl in recht lebhafte Wechselwirkung zum Menschen, o daß man also von einer absoluten Inaktivität nicht sprechen kann. Bei liesen Wechselwirkungen kommt es zur Bildung von Antikörpern aller Art eim Wirte (Agglutinin, Antitoxin usw.). Vor allem ist die Anti-oxinbildung die Ursache, warum so viele Menschen trotz D. B.-Ansteckung nicht erkranken; sie reagieren auf Toxin in geringer Menge nicht (negative Schickreaktion).

Unter dem Einfluß der Ansteckung entwickelt sich oft noch eine andere ınderung gegenüber den D. B.-Derivaten, indem auf Einspritzung des er-ıitzten Toxins eine besondere Reaktion sich zeigt, die früher nicht vor-ıanden war und die man als Pseudoreaktion bezeichnet. Sie wird von Schick als anaphylaktische Reaktion der Tuberkulinreaktion an die Seite estellt. Während aber die Tuberkulinreaktion als der Ausdruck einer elativen Immunität gegen Wiederansteckung angesehen werden kann, gilt ies für die Pseudoreaktion bei der Diphtherie bestimmt nicht, denn wir ehen, daß Menschen mit solcher Reaktion nach Ansteckung oft lange D. B.-räger sein können, ja sogar erkranken können. Hier sind weitere Unter-uchungen zur Aufklärung notwendig.

Im Anschlusse an die Ansteckung kann es auch in selte-en Fällen zum aktiven Parasitismus, d. h. zur Erkrankung ommen. Das trifft fast nur bei Individuen zu, welche toxinempfindlich schickpositiv) sind. Es ist aber bestimmt nicht notwendig, daß toxin-mpfindliche Menschen auf die Ansteckung mit Erkrankung reagieren ıüssen. Es mag also zur Erkrankung wohl die Toxinempfindlichkeit not-endig sein, es ist aber dazu noch etwas anderes, eine uns unbekannte Größe otwendig, damit die Erkrankung eintritt.

Toxin-wenigempfindliche (schicknegative) Individuen önnen aber doch auch an Diphtherie erkranken, nur ist es ahrscheinlich, daß der Erkrankung eine Abnahme des Anti-oxingehaltes mit Positivwerden der Schickreaktion voraus-eht. Solche Schwankungen des Antitoxingehaltes sind nach en mitgeteilten Untersuchungen keineswegs selten.

Die spontane Heilung einer Diphtheriekrankheit geht nach llgemeiner Meinung gewöhnlich auf dem Wege der Antitoxinbil-ung vor sich; es gibt aber genug Fälle, wie wir gezeigt haben, wo die Hei-ıng ohne Antitoxinbildung eintritt, und auch nach der Heilung kein Anti-xin vorhanden ist. Das sind wahrscheinlich Menschen, die zwei-, ja drei-ıal an Di. erkranken. Wenn es trotzdem verhältnismäßig selten geschieht, hat es seinen Grund darin, daß bei den betreffenden toxinempfindlichen

Individuen trotz Ansteckung der entsprechende unbekannte Faktor nicht gegeben ist.

Es ist naheliegend, anzunehmen, daß in den gar nicht seltenen Fällen wo die Heilung nicht mit Antitoxinbildung einhergeht, andere Immunisierungsvorgänge, die zu einer erhöhten bakteriziden Fähigkeit führen und dem Mechanismus der anaphylaktischen Immunität entsprechen, die Heilung bedingen. Die sogenannte Pseudoreaktion ist aber kein Indikator dafür.

Wir sehen also, daß eine ganze Menge von Fragen noch ungeklärt ist sowohl, wenn wir nach dem Mechanismus der Erkrankung, als auch wenn wir nach dem Mechanismus der Heilung fragen. Es ist nicht so einfach wie man angenommen hat, daß alle Schickpositiven, wenn sie angesteckt werden, erkranken, alle Schicknegativen gesund bleiben. Es ist sehr wahrscheinlich, daß die Menschen, die noch kein Antitoxin besitzen, wohl aber die Fähigkeit haben, es zu bilden, gewöhnlich überhaupt nicht erkranken. Das sind diejenigen, welche ihre antitoxische Immunität auf dem Umwege über den inaktiven Parasitismus erlangen. Ihnen steht eine kleinere Gruppe von Menschen gegenüber, welche eine geringe oder gar keine Fähigkeit zur Antitoxinbildung besitzen, an Diphtherie erkranken, und oft auch trotz Spontanheilung der Diphtherie antitoxinlos bleiben.

Die große Mehrzahl der Menschen immunisiert sich gegen den D. B. ohne zu erkranken, eine Minderzahl auf dem Umwege über die Erkrankung und ein anderer Teil immunisiert sich trotz durchgemachter Erkrankung nicht, wenigstens nicht im Sinne einer antitoxischen Immunität. Aus dieser einfachen Überlegung ergibt sich schon, daß man von der künstlichen aktiven Immunisierung bei der Diphtherie nicht allzuviel erwarten darf

Literaturverzeichnis.

Beckler Edith, Helen Gillete and Mary Parker: Diphtheria carriers among Massachusets school children, Journ. of. inf. dis., Bd. 29, ref. i. Zentralbl. f. Kdhlk., Bd. 13.
Gaumitz: Auftreten von Di. in einer Erziehungsanstalt. Zentralbl. f. Bakt. Bd. 87.
v. Groer und Kassowitz: Studien über die normale Imm. d. Menschen. 1—5 Mitt. Zeitschr. f. Immun.-Forsch. u. exp. Therap. 1914—1920.
Gutrie C. G., Gelien J. and Moss W. L.: Diphtheria carriers (Bull. John Hopkins Hospital Baltimore 1920), ref. Zentralbl. f. Bakt. 1922, Bd. 7[illegible]
Gutrie C. G., Marshall B. C. and Moss W. L.: Experimental in oculut. of hame thronths with virulent diphtherica bac., ref. Zentralbl. f. Kdhlk. 1923, Bd. 1[illegible]
Haberland H. F. O.: Latenter Mikrobismus, schlummernde Infektion, ruhend Inf., Berlin. klin. Wschr. 1919, Nr. 37.
Haidvogl M.: Di.-Krankheit bei aktiver Immunität. M. M. W. 1926, Nr. 9.
Hamburger Fr.: Schwankungen der Disposition, Monatsschr. f. Kdhlk. 1925/2[illegible] Bdd. 31..
Hamburger Fr.: Über den Wert der Stichreaktion nach Tuberkulininjektion Wien. kl. Wschr. 1908, Nr. 12, S. 381.
Hammerschmidt J.: Über Gruppenbildung bei den Di-Bazillen. Zentralbl. Bak. Orig. 1924, Bd. 93.
Jellenigg K.: Tröpfcheninf. bei Di., Wien. klin. Wschr. 1924, S. 25.
Klinger R. u. Schoch E.: Weitere experimentale Untersuchungen i. d. Di Zeitschr. f. Hygien. u. Inf., Bd. 80.

ober: Die Verbreitung d. Di.-Bazillus auf d. Mundschleimhaut gesunder Menschen, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. 1899, Bd. 31, S. 433.
ochmann: Aktive Di.-Immunisierung, Klin. Wschr. 1925, Nr. 40.
öffler Th.: Beobachtungen über Tbc.-Inf. i. d. Familie, M. M. Wschr., Nr. 37, 1921.
ıtschenko: Versprühung v. infektiös. Tröpfchen beim Husten, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. 30.
ıurent Edv.: Das Virulenzproblem d. pathog. Bakterien. Jena, Fischer, 1910.
ınfredi: Zentralbl. f. Bakt., ref. Bd. 32, 1903.
ìisser M.: 7. Tagung d. freien Verein. f. Mikrobiologie. Diskussion, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 57, S. 104.
ìisser M.: Zur Differentialdiagnose des Di.-Bazillus, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. 1897, Bd. 24, S. 443.
isser M.: Bakteriologie d. Diphthreie, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 57, S. 1.
terson: Zitiert nach Latschenko, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. 30.
iter: Die Bedeutung der symptomlosen, stummen Infekt. f. d. Immunität. D. med. W. 1925, Nr. 27, S. 1102.
iter: Studien über die stumme Infekt. und ihre Folgen im Experimente mit Rekurrensspirochäten. Ebenda 1925, Nr. 34, S. 1400.
ebold G.: Sind die Di.-Bazillenträger f. d. Umgebung infektiös? M. med. W. 1914, Nr. 17.
lomon: Monatsschr. f. Geb. u. Hyg. 1921, Bd. 55.
heller: Beiträge zur Diagnose u. Epidemiologie d. Diphtheritis (Orig.), Zentralbl. f. Bakt., Bd. 40.
hick B.: Die Di.-Hautreaktion d. Menschen als Vorprobe d. prph. Di.-Heilseruminjekt., M. med. W. 1913, Nr. 47.
ıick B., v. Groer u. Kassowitz: Handbuch d. biolog. Arbeitsmeth. nach Abderhalden, Teil 2, Heft 3.
ıick u. Magyar: Über Diphtherietoxin-Intrakutanreaktion beim Menschen. Verhandlung. d. Gesellschaft f. Kinderheilk., Münster 1912, Monatsschr. f. Kdhlk. 1902, S. 379.
igmann E.: Bekämpfung der Di. in Schulen usw., Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. 70.
igmann E.: Aus der Praxis d. Di.-Bekämpfung, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 57.
gl J.: Zur Zerstreuung v. Hustentröpfchen durch Phthisikern, Beitr. z. Kl. d. Tub., Bd. 61, H. 3.
ıchen H. u. Wiltschke: Di.-Untersuchungen an Kindern. II. Mitteil.: Über Infekt. u. Erkrankung an Di., Zeitschr. f. Hyg. 1925, Bd. 104.
ımitz K. E. F.: Diphtherie u. sogenannte Pseudodiphtherie, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. 1913, Bd. 75.
ımitz K. E. F.: Die Verwandlungsfähigkeit der Bakterien, Zentralbl. f. Bakt. (Orig.), Bd. 77.
auß W.: Versuche über beim Sprechen verschleuderter Tröpfchen, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. 96, 1922.
den: Die Diphtherie als Volksseuche u. ihre Bekämpfung, Deutsch. Archiv f. kl. Med., Bd. 89.
tschke Fr.: Di.-Untersuchungen an Kindern. I. Mitteil.: Über Bazillenträger, Zeitschr. f. Hygg. 1925, Bd. 104.
zoseck A.: Experiment.-Beiträge z. Lehre vom latent. Mikrobismus, Virch. Archiv 1904, Bd. 178, S. 82—110.
sche: Zitiert nach Latschenko, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. 30.

Dem Andenken an Max v. Gruber

6. Juli 1853 — 16. September 1927.

Mit Max v. Gruber hat unser Archiv seinen dritten Hauptschriftleiter verloren. Streng gegen sich und andere suchte er das Archiv auf der Höhe zu halten, auf die es seine Vorgänger, Pettenkofer und Rubner, gebracht; Kürze des Stils, praktische Anordnung des Stoffs, Weglassung von Einleitungen, bekannten Literaturangaben und unbeweisbaren Folgerungen verlangte er von allen eingesandten Arbeiten. Manchen Verbesserungsvorschlag hat er gemacht, manche Überarbeitung und Kürzung erreicht. Es war dies nicht immer angenehm für den Autor, aber von großem Vorteil für das Blatt. Schwer empfinden die Mitherausgeber die entstandene Lücke, schwer wird sie zu füllen sein.

Was Max v. Gruber für die hygienische Wissenschaft gewesen ist, ist in wenig Worten nur anzudeuten. Er war eine ausgezeichnete, vielseitig gebildete Forschernatur, gleichzeitig ein tüchtiger Chemiker, Physiologe, Mathematiker und Bakteriologe, also zum Experimentieren wie wenige berufen und geschickt. Die wichtigsten Experimentalarbeiten betreffen Bakteriologie und Serologie, chemische Physiologie, die Lehre von der Wasserversorgung und Desinfektion. Die Mehrzahl seiner größeren experimentellen Arbeiten ist im Archiv für Hygiene erschienen — wir nennen davon nur seine Arbeiten über Kohlenoxydvergiftung, über Variabilität des Vibrio proteus (mit Firtsch), über Choleragift und Cholerainfektion, über chemische Desinfektion (mit mehreren Schülern), über die feineren Vorgänge beim Eindringen der Bakterien in den Tierkörper und die Abwehrkräfte des Körpers (mit Schneider, Futaki und anderen). Die grundlegende Arbeit (mit Durham) über die Agglutinine, welche das große neue Problem in allen wesentlichen Punkten richtig faßte und praktisch auszunützen unternahm, ist ebenso wie die scharfe, objektive und wohltätig klärende Kritik der Ehrlichschen Seitenkettentheorie in der Münchner medizinischen Wochenschrift erschienen.

Die letzten 15 Jahre seines Lebens hat Gruber zwar noch experimentelle Arbeiten angeregt und das Archiv, wie oben angedeutet, als strenger Kritiker geleitet, er hat aber selbst nicht mehr viel im Laboratorium gearbeitet. Es wurde ihm immer wichtiger, an den großen Lebensfragen seines deutschen Volkes mitzuwirken als naturwissenschaftlich und medizinisch geschulter Denker, Redner und Schriftsteller. Er hat durch diese Arbeiten das Gebiet der Hygiene mächtig ausgedehnt. Von tiefem sozialem Empfinden, ein Kenner verschiedener Volkskreise und Länder, der Lebensalter und Geschlechter, der politischen Programme und ihrer sozialen

Verheißungen, hielt er sich von den politischen Parteien fern. Aber er suchte alle Menschen guten Willens zu gewinnen, um Deutschland zu heben. Die Familie sollte in seiner „Rassenhygiene" den Grundstock bilden, die Probleme der Gattenwahl, der Familiensicherung, der Erzeugung und richtigen Erziehung zahlreicher geistig und körperlich tüchtigen Kinder, waren zu studieren. Die Frage der Erwerbstätigkeit der Frau, das sexuelle Problem, die Alkoholfrage, das Wohnungswesen in all seiner theoretischen und praktischen Bedeutung arbeitete er gründlichst durch.

In manchem lehnen sich seine Bestrebungen an die des englischen „Eugenikers" Galton an; Gruber bleibt aber selbständig, und deutsche Bedürfnisse und Belange stehen stets im Mittelpunkt. Das Erarbeitete formte Gruber zu packenden Vorträgen, wirksamen Volksschriften, zu Ausstellungsmaterial, wissenschaftlichen Abhandlungen und Handbuchbeiträgen, wie es gerade der Stoff erforderte.

Die Statistik, eine Lieblingswissenschaft Grubers, wird stets kritisch als Beweismaterial verwendet. Fest stand für Gruber, wie seinerzeit für Pettenkofer, daß eine hygienische Vorlesung gleichzeitig sowohl Interesse für wissenschaftliche Fragestellung, scharfe Beobachtung und womöglich experimentelle Bearbeitung der Fragen erwecken und die Anwendung des Gefundenen auf soziale Fragen lehren muß! Nur so dient sie dem Leben und nicht bloß der Schule!

Der Meister hat in Schattenfroh, Grasberger, Lode, Kaup, Lenz, Süpfle, Landsteiner, Schneider, Ilzhöfer, Schumacher, v. Angerer u. a., eine große Reihe einheimischer z. T. bedeutender Schüler hinterlassen, an die sich eine Anzahl tüchtiger Ausländer anschließt. — Ein Stück weit sind übrigens alle deutschen und wohl auch viele fremdländischen Hygieniker vom Gruberschen Geiste, die hygienische Wissenschaft der gesamten Lebensführung des Volkes nutzbar zu machen, beeinflußt.

Gruber war in seiner Jugend ein Feuerkopf, eine „Alles- oder Nichtsnatur" wie Ibsens Brand, aber aus dem gärenden, brausenden Jugendmost ward im Alter goldklarer, edler Wein, der labte, wärmte und berauschen konnte! Ein sanfter Tod hat aus vollem Wohlbefinden dies reiche Leben beendet, wir preisen den Mann glücklich, dem dies Ende nach so reichem Tagewerk und schönem, ruhigem Lebensabend beschieden war. Im Kreise der deutschen Hygieniker und Sozialpolitiker wird seine machtvolle Persönlichkeit fortleben, solange der Sinn für das Ideale in Deutschland nicht erstorben ist; die deutschen Vaterlandsfreunde haben in ihm einen ihrer wertvollsten Vorkämpfer verloren.

K. B. Lehmann.

·ine vereinfachte Methode zur quantitativen Bestimmung ·on Kohlensäure, Ammoniak und Schwefelwasserstoff in der Luft bewohnter Räume.

Von

K. Süpfle, P. Hofmann und L. Walz.

(Aus dem Tierhygienischen Institut der Universität München. Vorstand: Professor Dr. K. Süpfle.)

(Bei der Redaktion eingegangen am 17. Februar 1927.)

Die Luft bewohnter Räume erleidet je nach den Umständen mannig- ·che Änderungen: es steigt — von sonstigen Veränderungen abgesehen — er Kohlensäuregehalt und es treten gasförmige Verunreinigungen auf. Die rhöhung des Kohlensäuregehaltes und die Beimischung fremder Gase kann urch verschiedene erprobte und bekannte Methoden exakt ermittelt erden. Diese sehr wertvollen Verfahren dienen im allgemeinen dem Ziel, n einziges bestimmtes Gas nachzuweisen. Es gibt aber Verhältnisse, wo · erwünscht ist, mehrere verschiedene Gase auf einfache Weise in einer nzigen Versuchsanordnung zu bestimmen. Eine solche Aufgabe ergab ch für uns, als wir Untersuchungen über die Änderungen, die speziell ·e Luft in Stallungen verschiedener Bauart erleidet, in Angriff nahmen. ier kam es darauf an, abgesehen von dem Verhalten der Temperatur und ·r Wasserdampfmengen, festzustellen, wie groß der Gehalt der Luft an ·ohlensäure, Ammoniak und Schwefelwasserstoff in den einzelnen Stallun- ·n ist. Daß Ammoniak in der Stall-Luft auftreten kann, ist bekannt. Das ·rkommen von Schwefelwasserstoff war zwar in Stallungen gewöhnlicher ·auart nicht zu erwarten, wohl aber in den sog. ,,Güllestallungen", wie · im bayerischen Allgäu vielfach üblich sind. Bei diesen Stallungen werden ·arn und Exkremente der Tiere in einer Grube gesammelt, die unter dem ·allfußboden unzweckmäßigerweise so angeordnet ist, daß die aus der ·renden ,,Gülle" — einem den Graswuchs der Weiden besonders fördernden ·üngemittel — entweichenden Gase in den Stallraum gelangen können.

Ein Verfahren, das unsere Forderung erfüllte, haben wir in der Literatur ·cht vorgefunden. Erismann[1]) hat zwar bei einer ähnlichen Frage- ·ellung — Verunreinigung der Luft durch Abtrittgruben — eine Anord-

1) Erismann, Zeitschr. f. Biologie, Bd. 11, S. 207.

nung erdacht und ausprobiert, um Kohlensäure, Ammoniak und Schwefelwasserstoff in ein und demselben Versuch zu bestimmen; da bei dieser Prozedur die Ermittelung des Schwefelwasserstoffes trotz großer Umständlichkeit nicht genügend sicher schien, beschränkte sich Erismann darauf, nur die Kohlensäure und das Ammoniak in demselben Versuch zu bestimmen; Schwefelwasserstoff dagegen wies er gesondert nach.

Auf der Suche nach einer zuverlässigen und einfachen Methode waren wir uns darüber klar, daß lediglich Absorptionsverfahren in Betracht kamen. Die zu untersuchende Luft war also mit Hilfe eines Aspirators durch mehrere hintereinander geschaltete geeignete Absorptionsmittel zu leiten; dabei kam es darauf an, solche Absorptionsmittel zu wählen, die jeweils nur ein bestimmtes Gas aufnehmen, alle übrigen Gase jedoch passieren lassen. Aus dieser Erwägung schied Wasser als Absorptionsmittel aus, da es sowohl Kohlensäure, als auch Ammoniak und Schwefelwasserstoff löst. Daher durfte zum Ammoniaknachweis nicht etwa das Verfahren verschiedener Autoren angewandt werden, bei dem die Luft durch H_2O geleitet wird, so daß hernach im Wasser der Ammoniakgehalt mittels Neßlers Reagens bestimmt werden kann.

Dagegen erschien zur Untersuchung auf Ammoniak das von K. B. Lehmann[1]) verwandte Verfahren geeignet, die Luft durch ein gemessenes Volumen n/10 H_2SO_4 zu leiten und die als Ammoniumsulfat gebundene Ammoniakmenge aus der Titerabnahme zu berechnen, die sich beim Titrieren der n/10 H_2SO_4 mit n/10 NaOH (Indikator: Paranitrophenol) ergab.

Zur Bestimmung von Schwefelwasserstoff konnten wir die bewährte Lehmannsche Methode[2]) mittels Jodlösung und Natriumthiosulfatlösung nicht heranziehen, weil das Natriumthiosulfat auch die Kohlensäure zum Teil absorbiert; auch war zu berücksichtigen, daß größere Kohlensäuremengen das Natriumthiosulfat zersetzen, so daß in Absorptionsversuchen unseres Planes größere Mengen Schwefelwasserstoff hätten vorgetäuscht werden können. Für unsere Zwecke vorzüglich geeignet erwies sich die Methode der Schwefelwasserstoffbestimmung von R. Fresenius[3]); die Luft wird zunächst mittels Chlorkalzium getrocknet und dann durch ein U-förmiges Rohr geleitet, das mit Kupfervitriol-Bimsstein und am Ausgangsende mit Chlorkalzium gefüllt ist; die ursprünglich schwach himmelblauen Kupfervitriol-Bimssteinstückchen färben sich beim Durchleiten von schwefelwasserstoffhaltiger Luft durch Bildung von Schwefelkupfer allmählich von gelb über braun bis schwarz; aus der Gewichtszunahme des Absorptionsröhrchens läßt sich der Schwefelwasserstoffgehalt bestimmen.

Zur Ermittlung der Kohlensäure kamen mehrere Methoden in Frage. Wir hätten so verfahren können, daß wir die Luft durch titriertes Barytwasser leiteten. Mit Rücksicht auf die geringeren Transportschwierigkeiten und die einfachere Handhabung entschieden wir uns zur gewichtsanalytischen Bestimmung der Kohlensäure mittels Absorption in 30% KOH. Hierzu bedienten wir uns des sehr zweckmäßigen Schraubenkaliapparates

1) Lehmann, Die Methoden der praktischen Hygiene, S. 147.
2) Lehmann, Archiv f. Hygiene, Bd. 30, S. 262.
3) Fresenius, Zeitschr. f. analyt. Chemie, Bd. X, 1871, S. 75.

dem ein Chlorkalziumröhrchen angeschlossen wurde, um das Eindringen von Wasserdampf zu verhüten; diese Fehlerquelle kam besonders in Betracht, wenn der mit diesen Absorptionsröhren verbundene Aspirator ein gewöhnlicher, mit Wasser gefüllter Flaschenaspirator war.

Unsere Apparatur besteht demnach aus folgender Anordnung (Abb. 1): Die zu untersuchende Luft gelangt in langsamem Strom zunächst in ein 100 ccm fassendes Rundkölbchen (1), das 25 ccm n/10 H_2SO_4 enthält, und gibt hier ihr Ammoniak ab; nun passiert die Luft zur verlässigen Trocknung ein Chlorkalziumröhrchen (2) und strömt durch das Kupfervitriol-Bimssteinröhrchen (3), wo Schwefelwasserstoff zurückgehalten wird; hierauf wird die Luft durch einen Schraubenkaliapparat (4) geführt und dadurch ihres Kohlensäuregehaltes beraubt; der Luftstrom wird schließlich durch ein Chlorkalziumröhrchen (5) gesogen und vom Aspirator (6) erfaßt.

Als Aspirator benutzten wir in manchen Versuchen einen gewöhnlichen Flaschenaspirator, in anderen den (auf der Abbildung wieder-

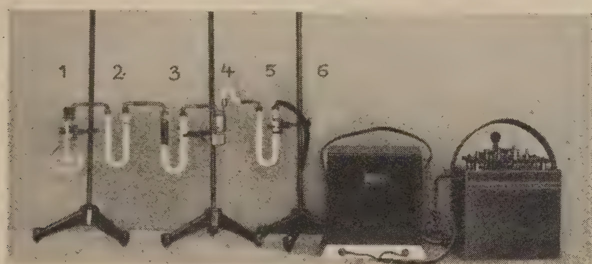


Abb. 1.

egebenen) Apparat von M. Hahn[1]). Dieser von der Firma W. Sedlbauer in München angefertigte Aspirator[2]) besteht aus einem Akkumulator und aus einer zweizylindrigen, mit Zählwerk versehenen kleinen Luftpumpe, die mit Hilfe eines Schwachstrommotors betrieben wird. Wir haben bei unserem Apparat zunächst das Zählwerk mittels einer Gasuhr für unsere spezielle Versuchsanordnung geeicht und uns durch gelegentliche Nachprüfungen überzeugt, daß das Zählwerk gleichmäßige Werte lieferte.

Das Chlorkalzium, das wir zur Füllung der Röhrchen unserer Versuchsanordnung verwendeten, war zuvor bis zur Gewichtskonstanz ca. ½ Stunde bei 200° C getrocknet worden. Vor dem ersten Gebrauch leiteten wir durch die gefüllten Chlorkalziumröhrchen einen Kohlensäurestrom, um eventuell vorhandenes Kalziumoxyd in Kalziumkarbonat zu verwandeln; darnach wurde Luft durchgesogen, um die Kohlensäure wieder zu verdrängen. Alle benutzten Stopfen und Gummischläuche wurden mit einer dünnen Schicht Paraffin versehen; ferner wurde darauf geachtet, daß die Röhren der einzelnen Absorptionsgefäße an den Verbindungsstellen ganz dicht aneinanderstießen.

1) Hahn, Gesundheits-Ingenieur, Bd. 31, 1908, S. 165 und 693.

2) Die Beschaffung des Hahnschen Aspirators war durch die Hilfe der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft ermöglicht, der auch an dieser Stelle für die Gewährung von Mitteln gedankt sei.

Die Bereitung des Kupfervitriol-Bimssteins erfolgte nach der Vorschrift von Fresenius; sie sei hier kurz wiedergegeben: Man übergieße in einer kleinen Porzellanschale 60 g Bimsstein in erbsengroßen Stückchen mit einer heißen konzentrierten Lösung von 30—35 g Kupfervitriol, bringe die Masse unter stetem Umrühren zur Trockne, setze die Schale dann in ein Luft- oder Ölbad, dessen Temperatur zwischen 150 und 160° C erhalten wird und lasse sie etwa 4 Stunden lang darin. Das Präparat ist jetzt fertig, die Stückchen erscheinen weiß mit einem Stich ins Bläuliche; man hebe sie in einem durch Kautschukstopfen sehr gut verschlossenen kleinen Kolben auf. Für die Versuche kommen die Stückchen Kupfervitriol-Bimsstein in U-förmige Röhrchen von etwa 10 cm Schenkellänge und etwa 150 mm Durchmesser; und zwar wird das Absorptionsröhrchen zu $^5/_6$ seines Inhaltes mit dem Kupfervitriol-Bimsstein (ca. 14 g) auf der dem Luftstrom dargebotenen Seite gefüllt, zu $^1/_6$ mit Chlorkalzium (nach dem Ausgangsende zu). In einem derart montierten Röhrchen können etwa 0,2 g Schwefelwasserstoff absorbiert werden.

Um die Zuverlässigkeit unserer Versuchsanordnung zu prüfen, wurde in zahlreichen Vergleichsversuchen untersucht, ob die einzelnen Gase (NH_3, H_2S, CO_2) an den richtigen Stellen vollständig aufgenommen wurden.

Am einfachsten gestaltete sich diese Prüfung beim Ammoniak. Wir gingen so vor, daß wir die Laboratoriumsluft zunächst durch eine Flasche leiteten, die eine verdünnte Ammoniaklösung enthielt, darauf in 3 hintereinander geschaltete Kölbchen, von denen jedes mit 25 ccm n/10 H_2SO_4 beschickt war. Genügte die Schwefelsäure eines Kölbchens zur Aufnahme allen Ammoniaks, so mußte die Schwefelsäure der beiden dahintergeschalteten Kölbchen nach Abschluß des Versuches einen unveränderten Titer zeigen. Das trat auch ein, solange der Luftstrom so reguliert war, daß die Luft langsam, Bläschen für Bläschen, durch die Schwefelsäure gesogen wurde, was einer Geschwindigkeit von 6—8 l pro Stunde gleichkam. War die Geschwindigkeit höher, so wurde nicht alles Ammoniak im ersten Kölbchen zurückgehalten; es nahm vielmehr der Titer auch des zweiten Kölbchens ab. Das dritte Kölbchen behielt in jedem Fall seinen ursprünglichen Titer.

Wenngleich es unwahrscheinlich war, daß die mit dem Ammoniak durch die Kölbchen geleitete Luft, etwa infolge ihres Gehaltes an CO_2, den Titer der vorgeschalteten Schwefelsäure verändern könne, wurden doch Versuche in dieser Richtung angestellt. Wir leiteten ammoniakfreie aber kohlensäurehaltige Luft zunächst durch ein Kölbchen mit n/10 H_2SO_4 und nach Trocknen über Chlorkalzium durch einen Schraubenkaliapparat. Der Titer der n/10 H_2SO_4 hat sich bei keinem der 12 Versuche verändert; der Kaliapparat zeigte eine Gewichtszunahme, die dem gleichzeitig nach der Pettenkoferschen Methode ermittelten Kohlensäuregehalt der zum Versuche verwendeten künstlich mit Kohlensäure angereicherten (3—6‰) Laboratoriumsluft entsprach.

In mannigfachen Variationen haben wir uns überzeugt, daß aller Schwefelwasserstoff in dem Röhrchen mit Kupfervitriol-Bimsstein zurückgehalten wird. Um schwefelwasserstoffhaltige Luft für unsere Ver-

leichsversuche zu erhalten, leiteten wir einen Luftstrom durch schwaches chwefelwasserstoffwasser, das sich in einem Kolben mit dreifach durch-ohrtem paraffinierten Gummistopfen befand. Durch die eine Bohrung 'urde ein bis zum Boden des Kolbens reichendes Glasrohr geführt, durch as die Luft eintrat; die beiden anderen Bohrungen hatten kurze Glas-öhren *a* und *b*, die unter dem Stopfen endigten. Aus den kurzen Glas-öhren trat die Luft in verschiedenen Richtungen aus, um nun auf ihren chwefelwasserstoffgehalt untersucht zu werden. Unser Plan war, die uverlässigkeit der Kupfervitriol-Bimssteinbestimmungsmethode an Luft-roben des gleichen Schwefelwasserstoffgehaltes zu erproben durch Ver-leich mit der Lehmannschen Methode[1]). Es kam also darauf an, Sicher-eit darüber zu erhalten, daß die aus den beiden Röhren *a* und *b* austreten-en Luftmengen tatsächlich gleichviel Schwefelwasserstoff enthielten. Wir eßen dabei die schwefelwasserstoffhaltige Luft zunächst aus den beiden öhren *a* und *b* gemäß der Lehmannschen Methode durch 2 hinter-nander geschaltete Zehnkugelröhren treten. Die erste Zehnkugelröhre ar mit 25 ccm n/100-Jodlösung, die zweite mit 25 ccm n/100-Natrium-iosulfatlösung gefüllt; hierbei war auf der Seite *a* ein Chlorkalziumrohr er Jodlösung vorgeschaltet. Nach beiden Seiten hin wurde die Luft mittels laschenaspiratoren gesogen, und zwar mit einer Geschwindigkeit von –8 l pro Stunde; vor den Flaschenaspiratoren war noch ein Chlorkalzium-ohr eingeschaltet. Das Auslaufen des Wassers wurde sorgsam so reguliert, aß in gleichen Zeiten absolut gleichviel Wasser auslief, so daß also auch ach beiden Seiten hin gleichviel Luft aus dem Kolben mit Schwefelwasser-offwasser aspiriert wurde.

War die Verteilung und Beladung der Luft mit Schwefelwasserstoff eichmäßig gelungen, so mußte in jeder der beiden Jodlösungen gleichviel chwefelwasserstoff gefunden werden. Wie die tabellarisch zusammengestell-n 7 Versuche (Tab. I) lehren, war dies der Fall. Gleichzeitig bestätigen die ersuche unsere Erwartung, daß im Chlorkalzium kein Schwefelwasserstoff ırückgehalten wird; denn die Versuchsanordnung war so, daß nur auf er Seite *a* ein Chlorkalziumrohr der Jodlösung vorgeschaltet war.

Nachdem wir uns überzeugt hatten, daß aus den beiden Röhren *a* und *b* uft gleichen Schwefelwasserstoffgehaltes ausströmt, konnten wir nun den eabsichtigten Vergleich der Kupfervitriol-Bimssteinmethode und der ehmannschen Methode durchführen. An die Stelle der Jodlösung und

Tabelle I.

Nr. des Versuchs	Luftmenge in l bei 0° und 760 mm		Versuchs-dauer in Stunden	H_2S in mg	
	a	b		a Jodlösung	b Jodlösung
1	18,4	18,4	3	3,40	3,42
2	24,1	24,1	3	2,70	2,74
3	21,4	21,4	3	3,62	3,60
4	21,0	21,0	3	2,81	2,77
5	24,0	24,0	3	2,60	2,60
6	24,0	24,0	3	3,13	3,19
7	21,8	21,8	3	3,50	3,50

1) Lehmann, Archiv f. Hygiene, Bd. 30, S. 262.

Natriumthiosulfatlösung der Seite *a* kam jetzt Kupfervitriol-Bimsstein Mit Rücksicht auf unsere Gesamtversuchsanordnung ließen wir jedoch di aus *a* austretende Luft zuerst ein Kölbchen mit n/10 H_2SO_4 passieren, w in den späteren eigentlichen Versuchen Ammoniak absorbiert werden sollte darauf zum Trocknen ein Chlorkalziumrohr und schließlich 2 hintereinande geschaltete Röhrchen mit Kupfervitriol-Bimsstein. Die aus *b* ausströmend Luft wurde zunächst ebenfalls durch ein Kölbchen mit n/10 H_2SO_4 geleite und dann durch Jodlösung und Natriumthiosulfatlösung.

Tabelle II.

Nr. des Versuchs	Luftmenge in l bei 0° und 760 mm a	b	Versuchsdauer in Stunden	H_2S in mg a Kupfervitriol-Bimsstein	b Jodlösung
1	7,6	7,6	1	2,8	2,79
2	8,1	8,1	1	3,3	3,30
3	8,3	8,3	1	3,0	2,97
4	6,5	6,5	1	3,4	3,46
5	7,5	7,5	1	3,1	3,10
6	7,3	7,3	1	3,3	3,27
7	6,8	6,8	1	3,4	3,40
8	7,2	7,2	1	3,6	3,58
9	8,1	8,1	1	3,1	3,14
10	7,0	7,0	1	2,4	2,47

In 10 derart durchgeführten Vergleichsversuchen (Tabelle II) zeigte die mit der Kupfervitriol-Bimssteinmethode gewonnenen Werte die best Übereinstimmung mit den Schwefelwasserstoffmengen, die sich nach de Lehmannschen Methode ergaben. Das zweite Kupfervitriol-Bimsstein röhrchen hatte bei keinem Versuche eine Gewichtsveränderung erfahren wir haben daher in den späteren Versuchen stets nur mit einem einzige Kupfervitriol-Bimssteinröhrchen gearbeitet.

Um ganz sicher zu gehen, haben wir unser vergleichendes Prüfungs verfahren verfeinert und eine neue Serie analoger Kontrollversuche an gestellt. Wir ließen die Luft, um sie mit Schwefelwasserstoff zu beladen wieder durch eine Flasche mit Schwefelwasserstoff streichen, sogen abe diesmal den austretenden Luftstrom zunächst durch eine Röhre, die in de Mitte eine starke bauchige Erweiterung — wie eine Vollpipette — besaß in dieser Erweiterung, die einen Inhalt von 500 ccm hatte, konnte das au der Flasche mit Schwefelwasserstoffwasser ausströmende Gemenge vo Luft und Schwefelwasserstoff eine noch vollkommenere und verlässiger Durchmischung erfahren, als bei unserer bisherigen Versuchsanordnung Erst nach dem Passieren dieser Erweiterung wurde der Luftstrom geteil und durch 2 Röhren *a* und *b* mittels Aspiratoren abgesogen. Diesmal regel ten wir den Ablauf des Wassers aus den beiden Aspiratoren absichtlich so daß er auf den beiden Röhren *a* und *b* ungleich war. Wenn es uns hierbe gelang, aus *a* und *b* Luftproben jeweils des gleichen Schwefelwasserstoff gehaltes zu erhalten, so mußten die Resultate, umgerechnet auf 1 l durch gesogener Luft, untereinander übereinstimmen.

In wie weitgehendem Maße dies in der Tat der Fall war, zeigen die Versuchsergebnisse, die in tabellarischer Übersicht (Tabelle III) wiedergegeben werden.

Tabelle III.

Nr. des Versuchs	a: Luftmenge in l	a: mg H_2S	a: Vergleichswert mg H_2S pro 1 l Luft	b: Luftmenge in l	b: mg H_2S	b: Vergleichswert mg H_2S pro 1 l Luft
		Jodlösung			Jodlösung	
1	1,0	0,85	0,85	1,2	0,97	0,81
2	1,8	2,49	1,38	2,0	2,89	1,44
3	0,2	3,14	15,70	0,2	3,15	15,75
		Jodlösung			Kupfervitriol-Bimsstein	
4	3,7	1,44	0,39	2,6	1,0	0,38
		Kupfervitriol-Bimsstein			Jodlösung	
5	2,3	8,4	3,65	3,0	11,0	3,66

Diese gute Übereinstimmung der Resultate beider Bestimmungsnethoden des Schwefelwasserstoffes findet man aber nur, solange die chwefelstoffwasserhaltige Luft arm an Kohlensäure ist. Wenn dagegen der Kohlensäuregehalt der Luft größere Werte annimmt, wie z. B. n der Luft von Güllestallungen (ca. 3‰), so erhält man Differenzen in lem Sinne, daß die Jodbestimmung rechnerisch einen höheren Schwefelvasserstoffgehalt ergibt, als die Kupfervitriol-Bimssteinmethode. Dieser Jmstand erlaubt aber nicht etwa die Schlußfolgerung, daß die Kupferitriol-Bimssteinbestimmung mangelhaft sei; vielmehr darf bei kohlenäurereicher Luft die Jodmethode nicht zum Vergleich herangezogen verden. Es wirkt nämlich die Kohlensäure auf Natriumthiosulfat ein nach olgenden Gleichungen:

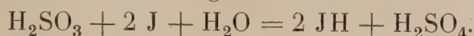


1. $Na_2S_2O_3 + 2\,H_2CO_3 = 2\,NaHCO_3 + H_2S_2O_3$;



2. $H_2S_2O_3 = H_2SO_3 + S$.

Infolge der Zersetzung von Natriumthiosulfat durch die Kohlensäure ntsteht schweflige Säure, die doppelt so viel Jod verbraucht, als die hioschwefelsäure, aus der sie gebildet ist:



$$H_2SO_3 + 2\,J + H_2O = 2\,JH + H_2SO_4.$$

Um festzustellen, ob der Schwefelwasserstoffnachweis mittels Kupferitriol-Bimsstein auch in kohlensäurereicher Luft zuverlässig ist, mußten ir daher nach einem anderen Vergleich suchen. Folgendes Verfahren ihrte zum Ziel. Kohlensäurereiche schwefelwasserstoffhaltige Luft wurde unächst durch n/10 H_2SO_4, dann über Chlorkalzium geleitet und von hier us durch ein Gabelrohr auf 2 verschiedenen Wegen mittels 2 Flaschenspiratoren weitergeführt: auf der einen Seite (*a*) strömte die Luft durch ein ohr mit Kupfervitriol-Bimsstein, wo nur Schwefelwasserstoff zurückehalten wurde, und danach durch einen Schraubenkaliapparat, wo nur ohlensäure absorbiert wurde; auf der anderen Seite (*b*) passierte die Luft diglich einen Schraubenkaliapparat und gab hier sowohl Kohlensäure ls auch Schwefelwasserstoff ab. Bei erwartungsgemäßem Ausfall der ergleichsversuche mußte die Gewichtszunahme, die im Kaliapparat der

Seite *b* eintrat, dieselbe Größe zeigen wie die Summe der Gewichtserhöhungen, die auf der Seite *a* das Kupfervitriol-Bimssteinrohr und der Kaliapparat erfuhren.

Tabelle IV.

Versuchs-Nr.	Gewichtszunahme in Gramm der Seite a: Kaliapparat	a: Kupfervitriol-Bimsstein-Rohr	a: zusammen	b: Kaliapparat
1	1,0810	0,0068	1,0878	1,0880
2	0,8368	0,0072	0,8440	0,8432
3	1,1509	0,0036	1,1545	1,1540
4	0,7268	0,0056	0,7324	0,7338
5	0,6364	0,0048	0,6412	0,6410
6	0,6768	0,0042	0,6810	0,6833
7	0,9796	0,0081	0,9877	0,9874
8	1,2531	0,0070	1,2601	1,2604
9	0,8390	0,0058	0,8448	0,8444
10	0,9570	0,0078	0,9648	0,9649
11	1,6641	0,0094	1,6735	1,6732

Wir haben 11 derartige Vergleichsversuche angestellt, die in Tabelle IV lückenlos dargestellt sind; die innerhalb 1 Stunde durchgesogene Luftmenge schwankte in den einzelnen Parallelversuchen zwischen 5,3 und 7,3 l. Die Resultate unserer Vergleichsversuche zeigen gute Übereinstimmung; in 9 Versuchen differierte die Gewichtszunahme der beiden Seiten *a* und *b* nur um 0,1—0,5 mg; in einem Versuch war die Gewichtsdifferenz 0,8 mg, in einem anderen 1,3 mg und in einem dritten 2,3 mg. Diese beiden letzten Versuche (Nr. 4 und Nr. 6 der Tabelle) sind also die einzigen, die nicht befriedigend ausgefallen sind; der Grund hierfür konnte nicht gefunden werden. Wir dürfen aber aus den erwartungsgemäß verlaufenen 9 Versuchen schließen, daß die Bestimmung des Schwefelwasserstoffgehaltes mittels Kupfervitriol-Bismstein auch in kohlensäurereicher Luft hinreichend genaue Resultate gibt. Daß bei unserer Versuchsanordnung in dem Kupfervitriol-Bimssteinröhrchen tatsächlich aller Schwefelwasserstoff absorbiert wurde, lehrte übrigens auch ein Kontrollversuch; wir hatten in 3 Versuchen hinter das Kupfervitriol-Bimssteinröhrchen ein Kölbchen mit Bleinitratlösung geschaltet: dieses zeigte niemals eine Spur von Bräunung. Auch in dem Kölbchen mit n/10 H_2SO_4, durch das die Luft an erster Stelle strömte, konnte nie Schwefelwasserstoff nachgewiesen werden; die Prüfung auf Schwefelwasserstoff wurde mit Nitroprussidnatrium vorgenommen und verlief immer negativ.

Schließlich haben wir die Genauigkeit unserer Versuchsanordnung noch nach der Richtung hin geprüft, ob die Kohlensäure tatsächlich erst im Kaliapparat aufgenommen wird und nicht etwa schon in den dem Kaliapparat vorangehenden Absorptionsröhrchen zum Teil zurückgehalten wird. Zur Entscheidung dieser Frage ließen wir einerseits Laboratoriumsluft — bei geöffneten Fenstern — die ganze Apparatur (n/10 H_2SO_4-Chlorkalzium Kupfervitriol-Bimssteinröhrchen — Schraubenkaliapparat — Chlorkalzium

assieren, anderseits untersuchten wir den Kohlensäuregehalt derselben ,aboratoriumsluft gleichzeitig nach der Pettenkoferschen Flaschenıethode. In 17 derartigen Vergleichsversuchen erhielten wir gute Überinstimmung zwischen dem aus der Gewichtszunahme des Kaliapparates rrechneten Kohlensäuregehalt der Laboratoriumsluft und dem nach der ’ettenkoferschen Methode ermittelten Wert, wie Tabelle V erkennen läßt.

Tabelle V.

Versuchs-Nr.	CO_2-Gehalt in Volum ‰ Pettenkofer	Kaliapparat	Versuchs-Nr.	CO_2-Gehalt in Volum ‰ Pettenkofer	Kaliapparat
1	0,46	0,44	10	0,50	0,52
2	0,44	0,44	11	0,42	0,40
3	0,40	0,42	12	0,41	0,44
4	0,49	0,46	13	0,48	0,46
5	0,48	0,46	14	0,41	0,38
6	0,46	0,44	15	0,44	0,47
7	0,41	0,40	16	0,47	0,45
8	0,49	0,53	17	0,48	0,46
9	0,50	0,48			

Bei den in Tabelle V wiedergegebenen Versuchen handelte es sich um ohlensäurearme Luft. Um bei der Untersuchung solcher Luft im Kalipparat eine genügend exakt wägbare Gewichtserhöhung zu erzeugen, aben wir stets etwa 14—18 l Luft durch das Kaliröhrchen durchgesogen. /enn die Luft einen erhöhten Kohlensäuregehalt besitzt, genügt es, 6—8 l uft zu untersuchen. Immer ist ein Hauptaugenmerk darauf zu richten, aß die Luft langsam durch die Apparatur gesogen wird, mit einer so gengen Geschwindigkeit, daß etwa 6 l Luft innerhalb 1 Stunde durchtreten. /ir haben uns in zahlreichen Vergleichsuntersuchungen überzeugt, daß ie derart durchgeführte Kohlensäurebestimmung von Luftproben beohnter Räume mit dem Kalischraubenapparat Werte ergibt, die mit den nalogen Ergebnissen der Pettenkoferschen Methode aufs beste übernstimmen.

Die Erledigung einer Luftuntersuchung auf den Gehalt an .ohlensäure, Ammoniak und Schwefelwasserstoff nach der beschriebenen [ethode nimmt etwa 2 Stunden in Anspruch. Diese lange Versuchsdauer t ein gewisser Übelstand unseres Verfahrens, der namentlich dann stören ird, wenn es sich darum handelt, den Gehalt der Luft an Kohlensäure, mmoniak und Schwefelwasserstoff in einem gegebenen kurzen Zeitaum zu erfassen. Wo es aber, wie bei vielen hygienischen Fragestellungen, arauf ankommt, Durchschnittswerte zu ermitteln, ist die erforderche Versuchsdauer von 2 Stunden wohl eher ein Vorzug, als ein Nachteil.

Bei der Verwendung der beschriebenen Methode zur Lösung prakscher Aufgaben — wir haben unter ländlichen Verhältnissen zahlreiche ntersuchungen der Luft von Stallungen durchgeführt, worüber an anderer telle berichtet werden wird — haben wir es als eine Annehmlichkeit empınden, daß die Apparatur ohne Schwierigkeit transportabel ist. An Ort nd Stelle haben wir lediglich den Gehalt an Ammoniak titrimetrisch er-

mittelt; hierzu bedarf es nicht vieler Utensilien; die Bestimmung vo Kohlensäure und Schwefelwasserstoff, wofür die Apparate in der voraus sichtlich benötigten Anzahl in gebrauchsfertigem Zustand mitzunehme waren, erfolgte nach der Rückkehr im Laboratorium durch Wägen. Wi haben mit dieser Ausrüstung einmal eine 3 Wochen dauernde Unter suchungsreise gemacht; eine zur Kontrolle unbenützt gelassene Serie vo Kupfervitriol-Bimssteinröhrchen und Kalischraubenapparaten zeigten nac der Rückkehr keine Gewichtsveränderung. Wir glauben danach, die be schriebene Methode empfehlen zu können.

Zur Veranschaulichung unseres Vorgehens bei der Durchführun unserer Versuche und bei der Umrechnung der gefundenen Werte lasse wir das Protokoll eines Versuches folgen.

Untersuchung der Luft einer Güllestallung in der Schweiz am 3. August 1926.

Temperatur während der Untersuchung: 20° C.

Barometerstand: 726 mm.

Durch die Apparatur gesogene Luftmenge: 6,3 l (bei 20° und 726 mm)

Bestimmung von NH_3:

Nach dem Versuch waren zur Neutralisation von 25 ccm der ver wendeten n/10 H_2SO_4 nur noch 24,6 ccm n/10 NaOH nötig, also 0,4 ccn n/10 NaOH weniger, als vor dem Versuch. 0,4 ccm n/10 NaOH entspreche $0{,}4 \cdot 1{,}7 = 0{,}68$ mg NH_3.

Bestimmung von H_2S:

Das zum Versuch verwendete Kupfervitriol-Bimssteinröhrchen wog

vor dem Versuch	44,5070 g
nach dem Versuch	44,5081 g
Gewichtszunahme	0,0011 g = 1,1 mg.

Demnach wurden 1,1 mg H_2S gefunden.

Bestimmung von CO_2:

Der zum Versuch verwendete Schraubenkaliapparat wog

vor dem Versuch	45,7536 g
nach dem Versuch	45,7892 g
Gewichtszunahme	0,0356 g = 35,6 mg.

Demnach wurden 35,6 mg CO_2 gefunden.

Die im Versuch ermittelten Werte müssen nun in Volumpromill umgerechnet werden. Die hierzu erforderliche Reduktion des untersuchte Luftvolumens (6,3 l) auf 0° und 760 mm

$$V_{(0^{\circ}, 760 mm)} = \frac{V_{tB} \cdot B}{760\,(1 + \alpha t)}$$

ergibt:

$$\frac{6{,}3 \cdot 726}{760\,(1 + 0{,}00367 \cdot 20{,}0} \text{ Liter} = 5{,}67 \text{ Liter.}$$

Da 1 mg NH_3 bei 0° und 760 mm ein Volumen von 1,3 ccm NH_3 beitzt, entsprechen die direkt gefundenen 0,68 mg NH_3 0,884 ccm NH_3.)iese 0,884 ccm NH_3 hatten wir in 5,67 l ermittelt, also enthielt die Luft ,16 Vol.-‰ NH_3.

Die analogen Umrechnungen für Schwefelwasserstoff und für Kohlenäure ergeben folgenden Gehalt der Luft an diesen Gasen in Volumpromille:

1 mg H_2S = 0,649 ccm H_2S (0°, 760 mm)
1,1 mg H_2S = 0,713 ccm H_2S, d. h. 0,12 Vol.-‰ H_2S
1 mg CO_2 = 0,5061 ccm CO_2 (0°, 760 mm)
35,6 mg CO_2 = 18,02 ccm CO_2, d. h. 3,21 Vol.-‰ CO_2.

Weitere Untersuchungen über den Einfluß der geistige[n] Tätigkeit auf den respiratorischen Gaswechsel und au[f] den Energieumsatz[1]).

Von

Professor Dr. **Gregor W. Chlopin** und den

Assistenten Dr. **W. Jakowenko** und Dr. **W. Wolschinsky.**

(Aus dem Institut für gesamte und Militär-Hygiene an der Medizinischen Militär-Akademie zu Leningrad.)

(Bei der Redaktion eingegangen am 26. Januar 1927.)

I. Der Einfluß der geistigen Tätigkeit auf den Gaswechsel.

Es ist uns gelungen, in unserer ersten Mitteilung[2]) festzustellen, da[ß] das Kopfrechnen von arithmetischen Aufgaben bei den Versuchspersone[n] den Sauerstoffverbrauch bedeutend erhöht (um 12,8—45,5%) und di[e] Ausscheidung von Kohlendioxyd steigert (um 4,7—42,0%). Diese Steig[e]rung des Gaswechsels hängt sowohl von der Intensität der geleistete[n] geistigen Arbeit, als auch von individuellen Besonderheiten der Ve[r]suchspersonen ab. Dabei konnte auch, als Regel, eine Zunahme der pr[o] Minute ausgeatmeten Luftmenge konstatiert werden (um 28,5—40,9%[)]. Die Untersuchungen wurden mit Hilfe des Geppert-Zuntzschen Appara[t] ausgeführt.

Unsere Angaben wurden, wie es in unserer zweiten Mitteilung[3]) vermerkt wurde, von Prof. Kestner und Knipping[4]) bestätigt. Die be[i]den letzten Autoren haben ihre Versuche mit Hilfe der Respirationskamme[r] von Benedikt ausgeführt und sind, ebenso wie wir, zum Schluß gekomme[n], daß der Sauerstoffverbrauch bei geistiger Abreit bedeutend erhöht wi[rd] (um 3—30,3%). Weiterhin wurden unsere Angaben auch durch Pro[f.]

---

1) Vorgetragen den 25. Oktober 1926 in der Sitzung der Hygienische[n] Sektion der Gesellsch. f. Kriegssanitarie an d. Med. Milit.-Akad. zu Petersbur[g].

2) Die geistige Tätigkeit und der Gasstoffwechsel. Arch. f. Hyg., Bd. 9[1], H. 7/8, 1922. (Mit Mitwirk. des Assist. Dr. J. L. Okunewsky.)

3) Prof. Greg. Chlopin, Zum gegenwärtigen Stand der Frage über den Ei[n]fluß geistiger Arbeit auf den Stoffwechsel des menschlichen Organismus. Separ[at] aus Hyg. u. biol. Abhandl. zum 70. Geburtstag von H. Griesbach, Gießen 192[.]

4) Prof. O. Kestner und Dr. H. W. Knipping, Die Ernährung bei geistig[er] Arbeit. Kl. med. Wochenschrift, I, 1353, 1922.

Slowtzow[1]) bestätigt, welcher nach derselben Methode von Geppert-Zuntz unsere Versuche wiederholt hat und fand, daß die geistige Tätigkeit bei drei Versuchssubjekten den Sauerstoffverbrauch um 8—97%, durchschnittlich um 19% erhöht, und durch Prof. H. Ilzhöfer[2]), welcher nach der Kroghschen Methode gearbeitet hat.

Es kann, wie es scheint, auf Grund aller dieser Untersuchungen als festgestellt gelten, daß unter dem Einfluß der geistigen Tätigkeit der Gaswechsel und der Energieverbrauch erhöht werden. Aus diesen Tatsachen läßt sich der Schluß ziehen, daß im Zentralnervensystem bei geistiger Tätigkeit der Stoffwechsel gesteigert wird, was durch erhöhten Sauerstoffverbrauch und Kohlendioxydausscheidung gekennzeichnet ist, ganz ebenso wie es in arbeitenden Muskeln beobachtet werden kann.

Diese Tatsache wird übrigens durch die Untersuchungen von Winterstein[3]) und dessen Schülern Unger[4]) und Hirschberg[5]) bestätigt, welche mit isoliertem Froschrückenmark gearbeitet haben.

Die vorliegende Abhandlung enthält die Resultate der Beobachtungen über den Einfluß verschiedener Arten geistiger Tätigkeit auf den Stoff- und Energiewechsel bei vier Versuchspersonen — Ch., W., J., und G., welche im Jahre 1926 angestellt worden sind. Die beiden erstgenannten Versuchspersonen sind dieselben, welche in unseren kürzlich publizierten[6]) Versuchen teilgenommen hatten.

Zur Charakteristik der Versuchspersonen seien hier folgende Angaben angeführt:

	Alter	Körperlänge in cm	Gewicht in kg	Vitalkapazität in ccm
Ch., Professor	63	180	108	2800
W., Doktor	35	167	55	3190
G., ,, ...	33	170	79	2800
J., ,, ...	36	172	67	3500

Die Versuche wurden mit Hilfe des Geppert-Zuntzschen Apparats ausgeführt; die Versuchspersonen wurden nicht sitzend, wie in unseren ersten Versuchen, sondern auf einem weichen Sofa liegend untersucht. Vor dem Beginn der Versuche haben die Versuchspersonen während einer Stunde liegend geruht.

Es wurden außerdem einige Beobachtungen über den Einfluß gehaltener Vorlesungen auf den Gaswechsel des Lektors und dasselbe in bezug auf das Examinieren angestellt. Für diese letzte Versuchsreihe hat Ch. als Versuchsperson gedient. Da bei den Versuchen mit dem Geppert-

1) Prof. B. Slowtzoff (†) und W. Rubel. Russisch. Physiologisch. Journ. I. M. Ssetschenow. 1925, Vol. VIII, Bd. 1—2.

2) Prof. H. Ilzhöfer, Über den Einfluß der geistigen Arbeit auf den Energieverbrauch. Arch. f. Hyg., Bd. 94, H. 7/8.

3) H. Winterstein. Zbl. f. Physiol. 20, 1906, 451. Ibid. 21, 1908. Zeitschr. f. allgem. Physiol. 6, 1907, S. 355. Biochem. Zeitschr. 61, 1914, 81; Zeitschr. f. physiol. Chem. 100, 1917, 185 (Mit E. Hirschberg.)

4) R. Unger. Biochem. Zeitschr. 61, 1914, 103. Ebenda 80, 1917, 364.

5) E. Hirschberg. Zeitschr. f. physiol. Chem. 101, 1918, 248. Ebenda 101, 1918, 212. (Mit H. Winterstein.)

6) Op. cit. 1925.

Zuntzschen Apparat den Versuchspersonen eine Maske angelegt wird, welche das Reden, rp. Examenieren verhindert, so wurde für diese Versuchsreihe die Versuchsanordnung entsprechend geändert: der Gaswechsel wurde unmittelbar vor dem Anfang einer Vorlesung, resp. Examens gemessen (Ruheperiode) und sofort nach der Beendigung derselben (Arbeitsperiode). Es hat sich da herausgestellt, daß der Einfluß geistiger Arbeit auf den Gaswechsel auch nach der Beendigung der vollbrachten Arbeit eine bestimmte Zeit fortdauert und dabei fast nicht minder intensiv, als während der Arbeit selbst. Diese Beobachtung erlaubt also den Einfluß geistiger Arbeit auf den Gaswechsel sozusagen post factum zu messen. Die Resultate unserer Versuche sind in folgenden Tabellen zusammengestellt.

Tabelle I.

Einfluß geistiger Arbeit auf die Körpertemperatur. Puls und Frequenz der Atemzüge.

Versuchs-Nr.	Versuchspersonen	Körpertemperatur vor d. Versuch	Körpertemperatur nach d. Versuch	Puls pro Minute vor d. Versuch	Puls pro Minute nach d. Versuch	Atemzüge pro Minute vor d. Versuch	Atemzüge pro Minute nach d. Versuch
1	Ch.	36	36	63	66	7	12
2	Ch.	36	36	66	67	8	13
3	W.	35,8	35,8	60	55	8	13
4	J.	36,2	36,2	64	58	13	14
5	W.	35,8	35,8	51	53	9	14
6	W.	35,8	35,8	51	51	9	14
7	J.	36,5	36,5	70	68	10	15
8	J.	36,5	36,5	64	64	11	13
9	W.	35,8	35,8	52	56	10	15
10	J.	36,3	36,3	55	—	14	—
11	G.	36,4	36,4	56	54	20	24
12	Ch.	36,2	36,2	68	69	8	11
13	Ch.	35,9	35,9	72	72	16	10
14	Ch.	35,8	35,8	69	72	8	12
15	Ch.	36,1	36,1	71	72	10	12
16	Ch,	35,3	35,3	77	84	8	9
17	Ch.	36,4	36,4	78	75	9	11
18	Ch.	36,2	36,2	68	68	10	10

Die Körpertemperatur (gemessen in der Achselgrube mit Hilfe des gewöhnlichen medizinischen Thermometers) blieb in sämtlichen Versuchen dieselbe, was mit den Resultaten unserer ersten Mitteilung im Einklang steht.

Was die Frequenz der Pulsschläge anbetrifft, so wird sie durch die geistige Arbeit, je nach den individuellen Eigenschaften der Versuchspersonen, der Art und Intensität der vollführten geistigen Arbeit und einigen anderen Bedingungen verschieden beeinflußt. So wird z. B. der Puls bei Ch. durch die geistige Arbeit um 1—3 Schläge beschleunigt und in einem Versuch (17) wurde der Puls verlangsamt, da das betreffende Subjekt vor dem Versuch (Vorlesung) einen erhöhten Nerventonus hatte. Zugleich mit der Beschleunigung des Pulses wird auch bei Ch. die Frequenz der Atemzüge größer. Versuchsperson W. arbeitet auch mit Pulsbeschleunigung

Einfluß der geistigen Tätigkeit auf den respiratorischen Gaswechsel.

Ver-suchs-Nr.	Ver-suchs-personen	Atemvolumen ccm pro Minute				Sauerstoffverbrauch ccm pro Minute				Kohlensäureausscheidung ccm pro Minute				Respirations-Quotient	
		R	T	Differenz absolut	Differenz %	R	T	Differenz absolut	Differenz %	R	T	Differenz absolut	Differenz %	R	T
1. Auswendiglernen.															
1	Ch.	5668	6351	+ 683	+ 12	290	291	+ 1	+ 0,3	199	191	— 8	— 4	0,686	0,656
2	Ch.	5783	6148	+ 365	+ 6	283	284	+ 1	+ 0,3	224	222	— 2	— 1	0,788	0,786
3	W.	3547	3812	+ 265	+ 7	187	191	+ 4	+ 2	137	144	+ 7	+ 5	0,785	0,755
Im Durchschnitt		4999	5470	+ 438	+ 8,8	253	255	+ 2	+ 0,8	187	186	— 1	— 0,5	0,751	0,732
2. Lesen wissenschaftlicher Bücher.															
4	J.	4886	5080	+ 194	+ 4	239	253	+ 14	+ 5,8	196	179	— 17	— 9	0,820	0,720
5	W.	3348	4093	+ 745	+ 22,3	176	184	+ 8	+ 4,5	137	135	— 2	— 1	0,779	0,735
6	W.	3206	3896	+ 690	+ 21,5	169	193	+ 24	+ 14,3	120	136	+ 16	+ 13,3	0,708	0,702
7	J.	4564	5172	+ 608	+ 13	230	244	+ 14	+ 6,0	179	202	+ 23	+ 13	0,776	0,856
8	J.	4952	5204	+ 252	+ 5	252	273	+ 21	+ 8,3	185	200	+ 15	+ 8	0,731	0,733
Im Durchschnitt		4191	4689	+ 498	+ 11,9	213	229	+ 16	+ 7,5	163	170	+ 7	+ 4,3	0,763	0,749
3. Kopfrechnen von arithmetischen Aufgaben.															
9	W.	3570	4839	+ 1269	+ 35,5	189	244	+ 55	+ 29	108	139	+ 31	+ 28	0,574	0,569
10	J.	5919	7989	+ 2070	+ 35	244	273	+ 29	+ 12	153	226	+ 73	+ 47,7	0,629	0,833
11	G.	5802	6308	+ 506	+ 9	260	305	+ 45	+ 17	216	193	— 23	— 11	0,830	0,632
Im Durchschnitt		5097	6379	+ 1282	+ 25,2	231	274	+ 43	+ 18,6	159	186	+ 27	+ 17	0,678	0,678
4. Vorlesungen und Examinieren.															
12	Cb.	6664	7218	+ 554	+ 8	295	317	+ 22	+ 7	250	275	+ 25	+ 10	0,848	0,868
13	Ch.	6510	7223	+ 713	+ 11	317	349	+ 32	+ 10	259	280	+ 21	+ 8	0,815	0,812
14	Ch.	6631	7917	+ 1286	+ 19	404	436	+ 32	+ 8	299	309	+ 10	+ 3,5	0,740	0,708
15	Ch.	6238	8095	+ 1857	+ 30	289	342	+ 53	+ 18	216	278	+ 62	+ 29	0,747	0,813
16	Ch.	7375	11257	+ 3882	+ 53	339	410	+ 75	+ 20	279	437	+ 158	+ 56	0,823	1,066
17	Ch.	7256	9240	+ 1984	+ 27	343	410	+ 67	+ 19	284	361	+ 77	+ 27	0,831	0,897
Im Durchschnitt		6779	8492	+ 1713	+ 25,3	331	377	+ 46	+ 14,0	265	324	+ 59	+ 22,2	0,801	0,861
18	Kontrolle Ch.	6296	6197	— 99	— 1,6	292	290	— 2	— 0,7	225	224	— 1	<—0,5	0,772	0,771

um 2—4 Schläge und mit Atmungsbeschleunigung; nur in einem Falle, bei leichter Arbeit, wurde der Puls verzögert (3). Person J. reagiert auf geistige Arbeit durch Verlangsamung der Pulsschläge oder sein Puls bleibt unverändert; die Atmung wird hingegen beschleunigt. Dasselbe wird auch an der Versuchsperson G. beobachtet. Die Frequenz der Atemzüge wird durch die geistige Arbeit bedeutender als der Puls beeinflußt, und zwar im Sinne einer Beschleunigung um 2—5 Atemzüge pro Minute.

Im allgemeinen, kann man sagen, wurde in diesen Versuchen, ebenso wie in den früheren, die Frequenz der Pulsschläge und der Atemzüge gesteigert. Diese Regel ist aber nicht ohne Ausnahmen.

In der unten angeführten Tabelle ist die geistige Arbeit nach ihrer relativen Schwierigkeit in Gruppen eingeteilt (Tabelle II).

In der ersten Gruppe sind Versuche verzeichnet, welche in einem mechanischen Auswendiglernen englischer Wörter aus einem Wörterbuch bestanden; d. h. ohne jeden Zusammenhang und Sinn.

Diese Versuche ergaben folgende Resultate:

Nr. des Versuchs	Versuchsperson	Steigerung des Gaswechsels	Sauerstoffverbrauch	Kohlendioxydausscheidung	Respirationskoeffizient
1.	Ch.	+ 12%	+ 0,3%	— 4%	—
2.	Ch.	+ 6%	+ 0,3%	— 1%	0
3.	W.	+ 7%	+ 2,0%	+ 5%	—
Im Durchschnitt .		+ 8,8%	+ 0,8%	— 0,5%	

Diese erste Modifikation geistiger Arbeit ist so leicht, daß nach 15 Min. des Versuchs im Geppert-Zuntzschen Apparat entweder gar kein Einfluß (Vers. Nr. 1 und 2) oder ein kaum bemerkbarer Einfluß (Vers. Nr. 3) auf den Gaswechsel konstatiert werden konnte. Die Differenzen zwischen den Zahlen der Arbeit und Ruhe im Durchschnitt übersteigen nicht die Fehlergrenzen der Methode. Diese Arbeit wird von den Versuchspersonen subjektiv auch als sehr leicht geschätzt.

Die folgende von uns untersuchte Modifikation der geistigen Arbeit bestand im Lesen wissenschaftlicher Bücher in deutscher und englischer Sprache. Die Resultate waren folgende:

Nr. des Vers.	Vers.-Person	Steigerung des Gaswechsels	Sauerstoffverbrauch	Kohlendioxydausscheidung	Respirations-Koeffizient
4.	J. . .	+ 4,0%	+ 5,8%	— 9,0%	—
7.	J. . .	+ 13,0%	+ 6,0%	+ 13,0%	+
8.	J. . .	+ 5,0%	+ 8,3%	+ 8,0%	+
5.	W. . .	+ 22,3%	+ 4,5%	— 1,0%	—
6.	W. . .	+ 21,5%	+ 14,3%	+ 13,3%	0
Im Durchschnitt		+ 11,9%	+ 7,5%	+ 4,3%	—

In Versuchen Nr. 4 (J.) und Nr. 5 (W.) wurde das Buch von Wedder „The medical aspects of chemical Warfare" (1925) in englischer Sprache gelesen. Das genannte Buch hat einen erzählenden Charakter und bezieht sich auf den chemischen Krieg, welcher Gegenstand den Versuchspersonen in allgemeinen Zügen bekannt war. Subjektiv wurde diese Art der Arbeit als schwieriger geschätzt, ohne daß sie aber eine bedeutende Anstrengung der Aufmerksamkeit erforderte.

Daher wurde in Versuchen Nr. 7 (J.), 8 (W.) und 6 (W.) ein schwierigeres Buch zum Lesen vorgelegt — Ostwalds „Grundlagen der Analytischen Chemie". Versuchsperson J. reagierte auf diesen Unterschied (Vers. Nr. 7) durch Zunahme des Gaswechsels und Steigerung des Sauerstoffverbrauchs (Vers. Nr. 8). Person W. zeigte einen vergrößerten Sauerstoffverbrauch und eine vergrößerte Kohlendioxydausscheidung (Vers. Nr. 6).

Schließlich wurde noch eine Versuchsreihe mit dem Kopfrechnen von arithmetischen Aufgaben angestellt — es ist dieselbe Art geistiger Arbeit, welche wir schon früher untersucht hatten, und welche einen sehr bedeutenden Einfluß auf den Gaswechsel gezeigt hatte. Folgende Zahlen wurden erhalten:

Vers.-Nr.	Vers.-person	Steigerung des Gaswechsels	Sauerstoffverbrauch	Kohlendioxydausscheidung	Respirationskoeffizient
9.	W. . . .	+ 35,5%	+ 29,0%	+ 28,0%	0
10.	J. . . .	+ 35,0%	+ 12,0%	+ 47,7%	+
11.	G.. . . .	+ 9,0%	+ 17,0%	— 11,0%	—
Im Durchschnitt		+ 25,2%	+ 18,6%	+ 17,0%	0

Bei allen Versuchspersonen hat der Gaswechsel einen sehr bedeutenden Zuwachs erlitten. Den größten Zuwachs des Sauerstoffverbrauches zeigt, wie vorher, die Versuchsperson W. Versuchsperson G. ergab im Durchschnitt etwa dieselbe Vergrößerung des Sauerstoffverbrauchs, wie Ch. in den früheren Versuchen. Versuchsperson J. kann der Versuchsperson L. der früheren Versuche gleichgestellt werden. Es sei noch vermerkt, daß bei Person G. die Ventilation der Lungen im Arbeitszustande sehr schwach erhöht wird; zugleich wird bei ihr eine Hemmung der Kohlendioxydausscheidung beobachtet. Wenn man die Durchschnittszahlen der Vergrößerung des allgemeinen Gaswechsels bzw. des Sauerstoffverbrauchs beim Kopfrechnen arithmetischer Aufgaben mit den entsprechenden Zahlen, welche beim Lesen wissenschaftlicher Bücher erhalten waren, vergleicht, so sieht man, daß beim Kopfrechnen der Gaswechsel sich etwa zweimal vergrößert, der Sauerstoffverbrauch aber sich gar mehr als zweimal vergrößert. Auch subjektiv wird die letztere Art der geistigen Arbeit als schwieriger und eine größere Aufmerksamkeits-Anstrengung erfordernd geschätzt.

Wie es aus dem folgenden Beispiel erhellt, hört der Einfluß geistiger Arbeit auf den Gaswechsel nicht zugleich mit der Arbeit auf, sondern dauert fort und erstreckt sich auf die darauffolgende Ruheperiode.

Versuchsperson	I. Ruhe. Sauerstoffverbrauch pro Minute	II. Arbeit. Sauerstoffverbrauch pro Minute	III. Ruhe. Sauerstoffverbrauch pro Minute
J. (Lesen)	239,0	252,9	250,5

Wenn man den Sauerstoffverbrauch nach Perioden vergleicht, so ist der Unterschied zwischen I. Ruheperiode und II. Arbeitsperiode, d. h. die Zunahme des Sauerstoffverbrauchs während der Periode II (13,9 ccm pro Minute oder ca. 7%) deutlich, hingegen zwischen den Perioden II und III sehr klein und innerhalb der möglichen Fehlergrenzen (— 2,4 ccm oder ca. 1%). Daraus folgt, daß der Gaswechsel während der Ruheperiode III

noch unter dem Einfluß der während der Periode II geleisteten Arbei steht und fast von derselben Intensität ist, wie während der Arbeit selbst Weitere Untersuchungen dieser Nachwirkung der geistigen Arbeit werde klarlegen müssen, ob der Gaswechsel sofort nach Beendigung der geistige Arbeit mit dem während der geistigen Arbeit seinem Zahlenwert nach stet so nahe übereinstimmt wie in diesem Falle bzw. wie groß hier die Ab weichungen sein können.

In Zusammenhang mit analogen Beobachtungen, welche bei frühere und diesen Untersuchungen gemacht waren, hat einer von uns (Chlopi vorgeschlagen, zu versuchen, den Geppert-Zuntzschen Apparat zu Studium des Gaswechsels bei verschiedenen Arten professioneller geistig Arbeit in ihrer gewöhnlichen Umgebung und bei verschiedener Arbeit dauer anzuwenden.

Die entsprechenden Beobachtungen haben gezeigt, daß je näher d Anfang der Untersuchung dem Zeitpunkt der Beendigung vollbracht geistiger Arbeit ist, desto größer auch die Übereinstimmung der erhalten Zahlen mit den Zahlen ist, welche bei der Beobachtung während der A beitsperiode selbst erhalten werden. Daher darf die Versuchsdauer nach b endeter geistiger Arbeit nicht größer als 10 Minuten sein. Diese Zeitdau erwies sich wenigstens in unseren Versuchen mit Vorlesungen und Ex minieren als am meisten geeignet.

Die Versuchsanordnung der unten angeführten Versuchsreihe war al von der gewöhnlich üblichen darin verschieden, daß die Beobachtung üb den Einfluß geistiger Arbeit (II. Periode) auf den Gaswechsel nicht währe der Arbeitsleistung selbst, sondern sofort nach deren Beendigung währe der Periode III angestellt wurde. Die Versuchsperson wurde, eben wie vor der Arbeit (I. Periode), liegend untersucht. Diese Untersuchung methode könnte man als „Nachwirkungsmethode" bezeichnen.

Um den Einfluß der zur Sache nicht gehörenden Bewegungen (z. Übergang von der Wohnung ins Laboratorium u. dgl.) auf die Ruheperiode auszuschalten, ließ man, wie in anderen Versuchen, die Versuchspers vor der ersten Messung während einer Stunde liegend ausruhen, bis se Atmung, Puls und subjektive Empfindung einen vollkommenen Ruh zustand des Organismus zeigten. Der Einfluß der Bewegungen, welche b der Beobachtung der professionellen Arbeit in seiner gewöhnlichen U gebung unumgänglich sind, wurde durch spezielle Versuche ausgeschalt (Nr. 18).

Die Dauer der Vorlesungen war eine verschiedene; eine akademisc Stunde (45 Minuten) und zwei akademische Stunden (90 Minuten). D Mehrzahl der Vorlesungen wurde vor Studenten gehalten und gehörte zu „Kursus der gesamten Hygiene", welcher von Ch. jährlich gelesen wi (Nr. 12, 13, 14, 15). Eine Vorlesung (Nr. 16) war hingegen speziellen Ch rakters und wurde vor Ärzten gelesen. Sie beanspruchte viel größe geistige Anstrengung und Konzentration der Aufmerksamkeit des Lekto als gewöhnliche Studentenvorlesungen. Sämtliche Vorlesungen wurd sitzend, ohne zu gestikulieren, ohne aufzustehen und ohne Zwischenpaus gehalten.

Die Zusammenstellung der Resultate ergibt:

Versuchsperson Ch.

Vers.-Nr.	Vers.-Zeit	Vergrößerung d. Gaswechsels	Sauerstoffverbrauch	Kohlendioxydausscheidung	Respirationskoeffizient
12.	45 Min.	+ 8,0%	+ 7%	+ 10,0%	+
13.	45 „	+ 11,0%	+ 10%	+ 8,0%	0
14.	45 „	+ 19,0%	+ 8%	+ 3,5%	—
15.	90 „	+ 30,0%	+ 18%	+ 29,0%	+
16.	90 „	+ 53,0%	+ 20%	+ 56,0%	+
17.	4 Std. (Exam.)	+ 27,0%	+ 19%	+ 27,0%	+
m Durchschnitt		+ 25,3%	+ 14%	+ 22,2%	+

Aus der angeführten Tabelle erhellt, daß unter dem Einfluß der 45 Mi-uten dauernden Vorlesungen der Gaswechsel im Durchschnitt um 13%, er Sauerstoffverbrauch um 8% und die Kohlendioxydausscheidung m 7% gesteigert werden. Der Respirationskoeffizient vergrößerte sich ı einem der drei Versuche und einem anderen ist er unverändert geblieben.

Wenn die Vorlesung doppelt so lang (90 Minuten) war, so verdoppelte ich auch annähernd die Steigerung des gesamten Gaswechsels auf 30% nd die des Sauerstoffverbrauchs auf 18%; die Ausscheidung des Kohlen-ioxyds wurde um das Vierfache sogar auf 29% gesteigert (Vers. 15).

Eine spezielle Vorlesung von derselben Dauer, welche vor einem un-ewöhnlichen Auditorium gehalten wurde, vom Lektor eine größere geistige ınstrengung forderte und auch subjektiv als schwieriger geschätzt war, rgab eine noch größere Steigerung des Gaswechsels: des gesamten um 3%, des Sauerstoffverbrauchs um 20% und der Kohlendioxydausscheidung m 56%. Zugleich wurde auch eine bedeutende Vergrößerung des Respi-ationskoeffizienten beobachtet. Es ist zu betonen, daß bei längerer .rbeitsdauer (90 Minuten), welche von einer verstärkten Lungenventilation egleitet war (Nr. 15 und 16), die Zunahme des ausgeatmeten Kohlendioxyds rößer war, als die Zunahme des Sauerstoffverbrauchs und mit der Ver-rößerung des gesamten Gaswechsels übereinstimmte: im Versuch 15 hatte ch der gesamte Gaswechsel um 30%, die ausgeschiedene Kohlendioxyd-ıenge um 29% vergrößert; im Versuch Nr. 16 vergrößerte sich der gesamte aswechsel um 53%, die Menge des Kohlendioxyds um 56%. Dabei wurde ber eine Zunahme des Sauerstoffverbrauchs im ersten Falle nur um 18%, n zweiten — um 20% beobachtet. Der Respirationskoeffizient hatte in iesen beiden Versuchen auch bedeutend zugenommen (um 8,6%, resp. m 28,9%).

Was den Puls anbetrifft (Tabelle I), so konnte bei Ch. während der uheperiode vor den Vorlesungen eine größere Pulsfrequenz beobachtet erden als vor anderen Modifikationen der geistigen Arbeit. Dies läßt sich ırch das Besorgtsein über die zu haltende Vorlesung und eventuelle De-onstrationen und durch ein unwillkürliches Überdenken des für die orlesung nötigen Zahlenmaterials u. dgl. erklären. Daher betrug die ulsfrequenz vor den Vorlesungen durchschnittlich 72 Schläge pro Minute, att normale 60, 74 Schläge nach der abgehaltenen Vorlesung; es wurde

somit nach Abhaltung der Vorlesung durchschnittlich eine Pulsbeschleunigung um 2 Schläge beobachtet, d. h. etwas weniger als beim Rechnen von Aufgaben in früheren Versuchen[1]). Vor der Vorlesung, welche vor Ärzten gehalten werden sollte (Nr. 16), und vor dem Reichsexamen (Nr. 17) wurde die größte Pulsfrequenz konstatiert (77—78 pro Minute). Nach der Abhaltung der schwierigsten Vorlesung wurde auch die größte Pulsbeschleunigung konstatiert — um 7 Schläge. Der allgemeine aufgeregte Zustand vor den Vorlesungen ist auch durch einen vergrößerten Sauerstoffverbrauch während der Ruheperiode vor der Vorlesung gekennzeichnet.

Die Atmung wurde bei Ch. durch diese Art der geistigen Arbeit nur wenig beeinflußt — die Frequenz der Atemzüge vergrößerte sich im Durchschnitt um 1, maximum um 3 (Nr. 12) pro Minute. Die Körpertemperatur (in der Achselgrube, mit gewöhnlichem, medizinischen Thermometer gemessen) zeigt, wie in anderen Versuchen, keine Erhöhung. In dieser Hinsicht stimmen unsere Beobachtungen mit denjenigen von Mosso[2]), welcher nach festlichen Vorlesungen bei sich eine Temperaturerhöhung bis 38° gefunden hatte, nicht überein. Subjektiv wurde nach 45 Minuten dauernden Vorlesungen keine Ermüdung bemerkt, wohl aber nach 90 Minuten langen Vorlesungen. Dieses Ermüdungsgefühl dauerte ca. 1 Stunde lang.

Wenn man eine 30jährige Gewöhntheit an Vorlesungen der Versuchsperson Ch. und sein Alter, in welchem die Reizbarkeit des Nervensystems meistens erniedrigt ist, ins Auge faßt, müssen die gewonnenen Zahlen fast als Minimalwerte betrachtet werden. Junge Leute, welche an öffentliche Reden und Vorlesungen noch nicht gewöhnt sind, müssen zweifellos eine größere Zunahme des Gaswechsels nach Vorlesungen, als Ch., ergeben und eine bedeutendere Ermüdung fühlen. Letzteres kann Ch. auch an sich selbst bestätigen. Als indirekter Beweis dieser letzten Annahme könnte der bei Mosso angeführte Versuch an Dr. Maggiora, einem jungen Lektor auf dem Gebiete der Hygiene dienen. Nach einer Vorlesung hatte bei Dr. Maggiora die geistige Ermüdung die Kraft des Flexors des dritten Fingers der linken Hand um 42% herabgesetzt. Beim jungen Prof. Adducco[3]) hatte im Gegenteil die Kraft des Fingerflexors der linken Hand nach seiner ersten Antrittsvorlesung wegen seiner allgemeinen Erregung um 17,6% zugenommen.

Öffentliche Vorlesungen, Antrittsvorlesungen in Universitäten, Festreden und Vorträge rufen eine besonders starke Ermüdung der Lektoren resp. Referenten hervor wegen der damit verbundenen Aufregung; diese allgemeine Aufregung beginnt schon lange Zeit vor den Vorlesungen, die Ermüdung nach ihrer Abhaltung äußert sich nicht nur in der Abnahme der Kräfte, sondern bei einigen Personen im gereizten Zustande des Nervensystems, welcher durch Beschleunigung des Pulses und der Atmung, durch Erhöhung des Blutdrucks und der Temperatur und durch Schlafmangel (wie z. B. bei Mosso selbst) gekennzeichnet wird.

---

1) Op. cit. 1922.
2) A. Mosso. Die Ermüdung. St. Petersburg 1893, S. 233—234 (russische Übersetzung).
3) Ibid., S. 227, 229, 230.

Außerdem konnte noch Ch. an sich selbst beobachten, daß eine Vorlesung eine verschieden starke Ermüdung hervorrufen kann, je nach Art ihrer Abhaltung: ein Lektor, welcher seine Vorlesung sitzend vorträgt, wird weniger ermüdet als ein Lektor, der stehend vorträgt; dieser letztere wird wiederum weniger ermüdet als ein Lektor, der während seiner Vorlesung hin und her geht, da in diesen Fällen sich zur geistigen Ermüdung noch eine verschieden starke physische Ermüdung hinzugesellt. Dieses bleibt meistens von jüngeren Lektoren unbemerkt; mit zunehmendem Alter aber, wenn die Herzkraft des Organismus schon mehr oder weniger geschwächt ist, werden diese Verschiedenheiten des Ermüdens so stark empfunden, daß man die Gewohnheit, gehend vorzulesen, unbewußt aufgibt und seine Vorlesungen erst stehend, schließlich aber sitzend vorzutragen beginnt.

Die bedeutende Steigerung des Gaswechsels beim Examinator könnte denjenigen, welche diese Art der Arbeit nicht kennen, paradox erscheinen, da die Rolle des Examinators rein passiv zu sein schneint. Dies ist aber nicht der Fall. In Wirklichkeit wird das Examinieren subjektiv als geistige Arbeit bedeutender Intensität empfunden, welche eine sehr starke und lang dauernde Ermüdung verursacht. Unser Versuch über den Einfluß des Examinierens auf den Gaswechsel des Examinators wurde während des Abiturientenexamens der Studenten der Mediz. Militär-Akademie vor der sog. „examinatorischen Reichskommission" im Frühjahr 1926 ausgeführt; also in einer feierlicheren Umgebung als diejenige der gewöhnlichen Übergangsexamen. Unter dem Einfluß des Examens, welches ununterbrochen 4 Stunden lang gedauert hat, wurde bei Ch. der gesamte Gaswechsel um 27%, der Sauerstoffverbrauch um 19%, die Ausscheidung des Kohlendioxyd um 27% erhöht; der Respirationskoeffizient hat sich dabei auch vergrößert. Nach einem vierstündigen Examen wird also beim Examinator eine ebenso große Zunahme des Sauerstoffverbrauchs konstatiert, wie bei einem Lektor nach zweistündiger Vorlesung.

Was die Untersuchungen über die durch Examinieren hervorgerufene Ermüdung anbetrifft, so wurden solche mit Hilfe des Ergographen von Mosso an dem schon oben erwähnten Dr. Maggiora[1]) ausgeführt. Es hat sich dabei herausgestellt, daß die Muskelkraft des Fingers von Dr. Maggiora, welcher während eines 4 Stunden 20 Minuten langen Examens 11 Studenten durchexaminiert hatte, sich um ein Vielfaches vermindert hat.

Wie könnte man sich nun die geistige Arbeit eines Examinators vorstellen? Sie dürfte wohl vor allem in der Anstrengung der Aufmerksamkeit, in Empfindungen von negativem Gefühlston, welche beim Fachmann durch falsche und absurde Antworten ganz ebenso erweckt werden, wie z. B. beim guten Sänger und Musiker durch Detonieren oder frappante Dissonancen; durch das unangenehme Gefühl, die betreffende Antwort als ungenügend beurteilen zu müssen und schließlich in gewissen Emotionen bestehen, welche mit der endgültigen Beurteilung der Antworten verbunden sind: Gefühl der moralischen Verantwortlichkeit, welches sich auf die Richtigkeit resp. Objektivität der Beurteilung bezieht.

1) Mosso. Op. cit. S. 254—256.

II. Energieumsatz.

Die oben angeführten Zahlen, welche eine Steigerung des Gaswechsels bei verschiedenartiger geistiger Arbeit beweisen, können mit Hilfe des Respirationskoeffizienten und der Zuntzschen Tabellen in Kalorien übergeführt werden. Bei dieser Berechnung haben wir nur die verbrauchte Sauerstoffmenge berücksichtigt, da diese letzteren ein viel konstanteres Bild ergeben, als die ausgeschiedene Kohlendioxydmenge, welche besonders bei kurz dauernden Versuchen größeren Schwankungen unterworfen ist: in einigen Fällen wird die Ausscheidung von Kohlendioxyd verzögert, in anderen erhält man im Gegenteil viel zu große Zahlen. Dieses wurde schon übrigens durch andere Autoren beobachtet (Prof. M. Schaternikoff)[1]) und wird durch ein ungleichmäßiges Übertreten von Phosphorsäure (Kestner und Knipping) und Milchsäure in die Blutbahn erklärt. Diese in einzelnen Versuchen beobachteten Schwankungen werden, wenn man die Durchschnittswerke berechnet, ausgeglichen, so daß die durchschnittlichen Respirationskoeffizienten eine genügende Konstanz aufweisen. Aus der Berechnung des täglichen Energieverbrauchs im Ruhe- und im Arbeitszustande aus der Sauerstoffmenge, haben wir auch auf die übliche Weise den Energieverbrauch pro 1 kg Körpergewicht, pro 1 qm der Körperoberfläche (nach der Formel von du Bois) [2]) und pro 1 cm Körperlänge (nach M. Gruber)[3]) berechnet.

Wir wollen zuerst in der nächsten Tabelle III den Energieumsatz bei unseren Versuchspersonen im Ruhezustande (den sog. „Grundumsatz“) mit den theoretischen Zahlen vergleichen. Dadurch werden wir imstande sein, einerseits den Kalorienwechsel unserer Versuchspersonen zu charakterisieren und, andererseits, die Genauigkeit unserer Versuche mit Hilfe der normalen Zahlen des Kalorienwechsels, welche auf Grund eingehender Untersuchungen von Harris und Benedikt[4]) in ihrer Abhängigkeit von Körpergewicht, Körperlänge, Alter und Geschlecht bekannt sind, zu kontrollieren.

Tabelle III.

Der Energieumsatz im Ruhestand in Kalorien pro Tag.

1. Versuchsperson: Ch., Körperlänge 180 cm; Gewicht 108 kg; Körperoberfläche 2,267 qm; Alter 63 Jahre.

---

1) Prof. M. N. Schaternikoff. Zur Methodik der Gaswechselversuche Z. f. experimentell. Biologie u. Medicin 1925, Separat-Abdr. (russisch) und Pflügers Arch., 1923, Separat-Abdr.

2) W. Klein und Maria Steuber. Die gasanalytische Methodik des dynamischen Stoffwechsels. Leipzig 1925. Formel du Bois: $O = P^{0,425} \cdot L^{0,725} \cdot 71,84$ wo P-Körpergewicht und L-Körperlänge in cm.

3) E. Grafe. Die pathologische Physiologie des Gesamtstoff- und Kraftwechsels bei der Ernährung des Menschen. München 1923, S. 3. Orig. s. Sitzungsbericht d. bayer. Akad. d. Wissensch. Math.-phys. Kl., S. 341, 1922.

4) Harris J. A. and Benedikt F. G.: A Biometric. Study of Basal Metabolism in Man. Carnegie Inst. Publ. 279. Wash. 1919.

Vers.-Nr.	Sauerstoffverbrauch in ccm pro 1 Minute	$\frac{CO_2}{O_2}$	Kalorien pro 24 Std.	Kalorien pro 1 cm Körperlänge	Kalorien pro 1 kg Gewicht	Kalorien pro 1 qm Oberfläche
1.	290	0,70	1956	10,9	18,1	864,2
2.	283	0,79	1950	10,8	18,1	862,0
12.	295	0,85	2066	11,5	19,0	913,0
15.	289	0,75	1973	10,9	18,3	872,0
Im Durchschnitt	289	0,77	1986	11,0	18,4	878,0

2. Versuchsperson: J., Körperlänge 172 cm; Gewicht 67 kg; Körperoberfläche 1,79 qm; Alter 36 Jahre.

Vers.-Nr.	Sauerstoffverbrauch in ccm pro 1 Minute	$\frac{CO_2}{O_2}$	Kalorien pro 24 Std.	Kalorien pro 1 cm Körperlänge	Kalorien pro 1 kg Gewicht	Kalorien pro 1 qm Oberfläche
4.	239	0,82	1655	9,6	24,7	923
7.	230	0,78	1582	9,2	23,6	884
8.	252	0,73	1710	9,9	25,6	955
10.	254	0,70	1646	9,6	24,6	919
Im Durchschnitt	241	0,76	1648	9,6	24,6	920

3. Versuchsperson: W., Körperlänge 167 cm; Gewicht 55 kg; Körperoberfläche 1,61 qm; Alter 35 Jahre.

Vers.-Nr.	Sauerstoffverbrauch in ccm pro 1 Minute	$\frac{CO_2}{O_2}$	Kalorien pro 24 Std.	Kalorien pro 1 cm Körperlänge	Kalorien pro 1 kg Gewicht	Kalorien pro 1 qm Oberfläche
3.	191	0,79	1317	7,5	23,9	816
5.	176	0,78	1211	7,3	22,0	753
6.	166	0,71	1141	6,8	20,7	708
9.	189	0,65	1257	7,5	22,6	773
Im Durchschnitt	181	0,73	1232	7,3	22,3	763

Der Kalorienwechsel bei Ch. im Ruhezustande ist in verschiedenen Versuchen genügend konstant gewesen und steht den nach Harris und Benedikt berechneten normalen Zahlen sehr nahe.

	Kalorien pro 24 Stunden	Kalorien pro 1 kg Gewicht	Kalorien pro 1 qm Oberfläche	Kalorien pro 1 cm Körperlänge
Ch. im Durchschnitt (aus 4 Versuchen)	1986	18,4	878	11,0
Ch. nach Harris und Benedikt berechnet	2027	18,8	894	11,3

Die Übereinstimmung unserer Versuche mit den Tabellen von Harris und Benedikt ist eine sehr genaue (— 2%).

Bei der Versuchsperson J. stimmt der Grundumsatz mit den normalen Zahlen ebenso gut, wie bei Ch., überein.

	Kalorien pro 24 Stunden	Kalorien pro 1 kg Gewicht	Kalorien pro 1 qm Oberfläche	Kalorien pro 1 cm Körperlänge
J. im Durchschnitt (aus 4 Versuchen)	1648	24,3	920	9,6
J. nach Harris und Benedikt berechnet	1605	24,0	896	9,4

Nur bei W. ist der Wärmeumsatz in Ruhe bedeutend niedriger, als es die Normen fordern (— 13,6%); dieses könnte vielleicht, nach Benedikt[1]), durch eine relativ geringe Menge „aktiven Protoplasmas" bei W. erklärt werden.

1) Benedikt, G.: Factors affecting Basal Metabolism. Journal of biolog. Chemistry. T. XX, 1915, p. 263. Ibid. Blunt, K. and Dye, M. T. 47, 1921, p. 69.

	Kalorien pro 24 Stunden	pro 1 kg Gewicht	pro 1 qm Oberfläche	pro 1 cm Körperlänge
W. im Durchschnitt (aus 4 Versuchen)	1232	22,4	764	7,3
W. nach Harris und Benedikt berechnet	1422	25,9	882	8,9

Die Kalorienmenge pro 1 cm Körperlänge ist bei W. auch bedeutend niedriger, als man es nach Harris und Benedikt erwarten müßte.

In der nächsten Tabelle IV sind die Kalorienwerte des Energieumsatzes im Ruhezustande und unter dem Einfluß der geistigen Arbeit zusammengestellt.

Tabelle IV.

Täglicher Energieumsatz unter dem Einfluß geistiger Arbeit.

Vers.-Nr.	Versuchspersonen	Ruhe	Arbeit	Differenz in Kalorien	Differenz in Prozenten
I. Auswendiglernen englischer Wörter.					
1.	Ch.	1956	1964	+ 8	+ 0,40
2.	Ch.	1950	1959	+ 9	+ 0,46
3.	W.	1317	1307	— 10	— 0,51
Im Durchschnitt		1741	1743	+ 2	+ 0,11
II. Lesen wissenschaftlicher Bücher.					
4.	J.	1655	1713	+ 58	+ 3,50
5.	W.	1211	1252	+ 41	+ 3,39
6.	W.	1141	1302	+ 161	+ 14,11
7.	J.	1582	1713	+ 131	+ 8,28
8.	J.	1710	1853	+ 143	+ 8,36
Im Durchschnitt		1460	1567	+ 107	+ 7,30
III. Kopfrechnen von arithmetischen Aufgaben.					
9.	W.	1245	1648	+ 403	+ 32,37
10.	J.	1646	1902	+ 256	+ 15,55
11.	G.	1754	2058	+ 304	+ 17,33
Im Durchschnitt		1548	1869	+ 321	+ 20,74
IV. Vorlesungen und Examinieren.					
12.	Ch. } Vorl. 45 Min.	2066	2231	+ 165	+ 8,0
13.	Ch. } Vorl. 45 Min.	2203	2419	+ 216	+ 9,8
14.	Ch. } Vorl. 45 Min.	2750	2945	+ 195	+ 7,0
15.	Ch. } Vorl. 90 Min.	1973	2371	+ 398	+ 20,2
16.	Ch. } Vorl. 90 Min.	2356	2980	+ 624	+ 22,3
17.	Ch. Examin.	2390	2907	+ 517	+ 20,8
Im Durchschnitt		2290	2642	+ 352	+ 15,4

Der Energieverbrauch nimmt also, wie der Gaswechsel mit der Vergrößerung der Intensität der geistigen Arbeit zu:

	Vergrößerung des Wärmeumsatzes	Vergrößerung des Gaswechsels nach Sauerstoff
1. Auswendiglernen der Wörter	+ 0,11%	+ 0,8%
2. Lesen wissenschaftl. Bücher .	+ 7,30%	+ 7,5%
3. Kopfrechnen von arithm. Aufgaben.	+ 20,74%	+ 18,6%
4. Vorlesungen u. Examinieren .	+ 15,40%	+ 14,0%

Dank der geringen Schwankungen der Werte des Respirationskoeffizienten stehen die Zunahmen des Wärme- und Gaswechsels einander sehr nahe. Nur bei Vorlesungen und Examinieren ist der Energieumsatz bedeutend höher (+ 1,6%) als der respiratorische Gaswechsel, da bei dieser Art geistiger Tätigkeit der Respirationskoeffizient im Durchschnitt bedeutend zunimmt.

Eine ebenso bedeutende Abhängigkeit des Energie- und Gaswechsels von der Intensität der geistigen Arbeit (Rechnen von Aufgaben) konnten wir auch in unserer früheren Mitteilung feststellen[1]).

Den unsrigen analoge Angaben findet man in den Untersuchungen von Prof. H. Ilzhöfer[2]).

Für leichte geistige Arbeit (Lesen eines Feuilletons im Tageblatt) hat Ilzhöfer eine Vergrößerung der Wärmeproduktion um 1,6% (von 1,0 bis 4,4%), für intensive (Lesen von wissenschaftlichen Büchern und Rechnen von schweren geometrischen Aufgaben) eine solche um 5,0% (1,8 bis 10,6%) gefunden. Außerdem hat er in einem seiner Versuche (Nr. 8) bei intensiver Arbeit eine Vergrößerung der Wärmeproduktion um 20,9% gefunden; da dieser Versuch eine Ausnahme bildete, wurde er vom Autor nicht berücksichtigt.

Das Lesen eines Feuilletons war nach Ilzhöfer eine etwas schwierigere Art geistiger Arbeit, als das mechanische Auswendiglernen in unseren Versuchen. Das Lesen wissenschaftlicher Bücher und das Rechnen geometrischer Aufgaben (schriftlich?) stehen nach der Intensität des Gaswechsels den entsprechenden Kategorien geistiger Arbeit in unseren Versuchen nahe. Die Maximalwerte der einzelnen Versuche von Ilzhöfer stehen den unsrigen nahe, sind aber doch bedeutend niedriger. Die Untersuchungen von Ilzhöfer wurden mit Hilfe des vereinfachten Apparats von Krogh, nicht mit dem Geppert-Zuntzschen, und an Versuchsobjekten, welche an die Respirationsversuche und an intensive geistige Arbeit gewöhnt waren, ausgeführt.

In unseren Versuchen ist die Zunahme der Wärmeproduktion bei leichter Arbeit (Auswendiglernen von Wörtern) nicht größer als 1 Kal., bei mittelschwerer — 4,4 Kal., bei schwerer — 13 Kal. pro Stunde. Bei Vorlesungen und Examina, wo zu rein geistiger Arbeit sich noch die Bewegung der Stimmbänder hinzugesellt, erreicht die Zunahme der Wärmeproduktion 14,6 Kal. pro Stunde. Der Durchschnittswert für alle von uns untersuchte Arten geistiger Tätigkeit beträgt 8 Kal. pro Stunde.

Nach Benedikt und anderen Autoren haben wir folgende Werte für die Wärmeproduktion pro Stunde[3]):

Geistige Arbeit (im Durchschnitt)	7—8 Kal.	leichte — 2,6 Kal., schwere — 16,3 Kal.).
Nähen	10 ,,	
Abwischen von Staub	100 ,,	
Tischlerarbeit	180 ,,	
Hobeln	420 ,,	

1) Op. cit. 1922.
2) Op. cit. 1924.
3) Klin. Wochenschrift 1, 1353, 1922.

In Vergleich mit Muskelarbeit müßten also die von uns untersuchten Arten geistiger Arbeit als leicht bezeichnet werden. Aber die durch geistige Arbeit verursachte Ermüdung und starke Herabsetzung der Muskelkraft (z. B. nach 2stündiger Vorlesung) zeigen, daß die geistige Arbeit eine bei weitem stärkere Vergiftung des Organismus durch gewisse Produkte geistiger Tätigkeit verursacht, als es bei entsprechenden Kategorien von Muskelarbeit statt hat.

Es ist Aufgabe künftiger Untersuchungen auf diesem Gebiete, die Ursachen dieser Erscheinungen aufzuklären.

Dies sind die Tatsachen, die andere Autore und wir auf experimentellem Wege gefunden haben; Tatsachen, welche eine Zunahme des Gaswechsels und Energieumsatzes unter dem Einfluß der geistigen Arbeit feststellen.

Diese Tatsachen können auf verschiedene Weise verstanden und erklärt werden: man könnte entweder die Zunahme des Gas- und Energiewechsels ausschließlich dem Einfluß „Intellektueller Arbeit" zuschreiben; oder man kann glauben, daß diese Zunahme von der „geistigen Arbeit" zusammen mit den an sie untrennbar geknüpften materiellen physiologischen Veränderungen im Nervensystem und anderen Systemen des Organismus abhängt; oder man kann der Meinung sein, daß die beobachteten Veränderungen im Gas- und Energiewechsel nur durch physiologische Prozesse verursacht werden, welche die geistige Arbeit stets begleiten; man könnte sie schließlich nur auf akzessorische und zufällige Muskelbewegungen zurückführen, welche von dem Versuchssubjekte nicht bemerkt werden können. Zu dieser letzten Erklärung neigten sich gerade Ilzhöfer und noch früher Speck[1]).

Wenn man also solch eine Erklärung annimmt, so ist man gezwungen, auch anzunehmen, daß zusammen mit der Zunahme der Intensität geistiger Arbeit auch diese vermeintlichen unbemerkbaren Muskelbewegungen größer werden; d. h. aber einen bestimmten sehr engen und unzertrennbaren Zusammenhang dieser Muskelbewegungen mit geistiger Arbeit und deren Intensität anzunehmen.

Die von uns gewonnenen Werte der Vergrößerung des Gas- und Energiewechsels sind viel zu groß, als daß sie nur auf diese unmerklichen und unsichtbaren Muskelbewegungen zurückgeführt werden könnten. Viel plausibler scheint uns die Annahme zu sein, daß die geistige Arbeit ein von ihr unzertrennbares physiologisches Äquivalent, sowohl im Nervensystem (etwa gesteigerte Durchblutung und Oxydation) als auch in anderen Organen (Zunahme des Blutdrucks, der Frequenz der Atemzüge u. dgl.) besitzt. Es bleibt leider zurzeit unmöglich, die sog. geistige Arbeit von diesem physiologischen Äquivalent zu trennen.

Zugunsten dieser unserer Annahme sprechen auch die Untersuchungen von Winterstein[2]) und seiner Schüler, welche es festgestellt hatten, daß die Energie des Stoffwechsels im isolierten Rückenmark des Frosches sogar im Ruhezustande 3—3½ mal so stark ist als in übrigen Körperteilen dieses

1) Arch. f. experim. Pathologie und Pharmakologie. Bd. XV, 1882.
2) Op. cit. 1918.

Tieres; bei Reizung mit elektrischem Strom wird der Stoffwechsel im Rückenmark noch um 70% erhöht. Dafür sprechen übrigens auch die Angaben bezüglich der Blutversorgung verschiedener Organe des Menschen. Die Substanz des Gehirns erhält pro Minute auf 100 g berechnet 136 ccm Blut; während die ruhenden Muskeln nur 12 ccm und der ganze Körper im Durchschnitt 8,8 ccm Blut erhalten.

Man kann also nicht umhin, den Worten von Winterstein zuzustimmen, welcher sagt: „Die Nervenzentren sind der Sitz lebhafter Stoffwechselvorgänge, die im wesentlichen Oxydationsprozesse darstellen oder mit solchen verbunden sind, und an denen Zucker, Fette und Lipoide, sowie Eiweißkörper Anteil nehmen. Die Nerventätigkeit ist mit einer bedeutenden Steigerung des Stoffumsatzes verbunden, an der die einzelnen Substanzen in ungleichem Ausmaße beteiligt sind. Der Traubenzucker ist in ganz besonderem Maße geeignet, die Tätigkeit der Nervenzentren zu erhalten, deren Arbeitsleistung bei ausreichender Zufuhr von Dextrose zur Gänze durch diese bestritten wird.“

Schlußfolgerungen.

1. Geistige Arbeit, welche im Auswendiglernen von Fremdwörtern besteht, hat den geringsten Einfluß auf die Vergrößerung des Gaswechsels (+ 8,8%) und des Sauerstoffverbrauchs (+ 0,8%). Nur bei einem der Versuchssubjekte (W.) ist dieser Einfluß genügend deutlich gewesen.

2. Das Lesen wissenschaftlicher Bücher ist von einer größeren Zunahme des gesamten Gaswechsels (+ 11,9%), des Sauerstoffverbrauchs (+ 7,5%) und der Kohlendioxydausscheidung begleitet (+ 4,3%); außerdem verursacht es meistens eine geringe Puls- und Atembeschleunigung.

3. Das Kopfrechnen von arithmetischen Aufgaben verursacht die größte Zunahme des gesamten Gaswechsels (+ 25,2%), des Sauerstoffverbrauchs (+ 18,6%) und der Kohlendioxydausscheidung (+ 17%), was mit unseren früheren Versuchen im Einklang steht.

4. Vorlesungen und Examinieren erhöhen sehr bedeutend den gesamten Gaswechsel (+ 25,3%), den Sauerstoffverbrauch (von 7—20%, durchschnittlich 14,0%) und die Kohlendioxydausscheidung (+ 22,3%); der Respirationskoeffizient wird dabei auch vergrößert (von 0,80 auf 0,86); eine Beschleunigung der Pulsschläge und der Atembewegungen hat auch statt.

5. In einzelnen Versuchen hat sich nach geistiger Arbeit die Kohlendioxydausscheidung nicht nur nicht vergrößert, sondern sogar verkleinert; in anderen Versuchen wurde im Gegenteil eine viel zu große Kohlendioxydausscheidung beobachtet. Diese bedeutenden Schwankungen der Kohlendioxydausscheidungen erlauben nicht auf deren Grund, besonders bei kürzerer Versuchsdauer, den Einfluß geistiger Arbeit auf den Gaswechsel zu beurteilen.

6. Wegen der ungleichmäßigen Kohlendioxydausscheidung bei kurzer Versuchsdauer erhält man in einigen Versuchen abnorme niedrige Werte der Respirationskoeffizienten; letztere werden nach geistiger Arbeit als Regel, nicht größer, sondern bleiben konstant oder vermindern sich sogar.

7. Nach längerer geistiger Arbeit (45 oder, besonders, 90 Minuten lange Vorlesung und 4 Stunden langes Examinieren) wird die Kohlendioxydausscheidung gleichmäßiger und ist nach Versuchen stets vergrößert. Im Durchschnitt wird auch der Respirationskoeffizient nach vollführter geistiger Arbeit größer; er nimmt auch in der Mehrzahl der einzelnen Versuche zu (in 4 gegen 2).

8. Für das Studium des Einflusses geistiger Arbeit auf den Gaswechsel bei kurzer Versuchsdauer mit Hilfe der Apparate von Speck, Geppert-Zuntz u. dgl. ist das Kopfrechnen von arithmetischen Aufgaben am geeignetsten.

9. Das Lesen von wissenschaftlichen Büchern ist für diese Zwecke weniger geeignet, da es den Gaswechsel weniger beeinflußt, als das Rechnen und sein Einfluß verschieden ist, je nachdem der gebrauchte Text vom Versuchssubjekt leichter oder schwerer verstanden wird, was großen individuellen Schwankungen unterworfen ist. Die Wahl eines passenden Buches ist daher recht schwierig.

10. Das Auswendiglernen von Wörtern, von sinnlosen Buchstabenkombinationen u. dgl. ist eine viel zu leichte geistige Arbeit und daher für kurzdauernde Versuche wenig geeignet.

11. Die Verschiedenheit der Resultate, welche verschiedene Forscher seit Speck beim Studium des Einflusses geistiger Arbeit auf den Gaswechsel erhalten haben, hängt unseres Erachtens besonders davon ab, daß man unpassende Arten geistiger Arbeit für die Untersuchungen gewählt hatte und daß man die Resultate der Untersuchungen von solchen Arten geistiger Arbeit untereinander verglichen hatte, welche für die Versuchspersonen einen sehr verschiedenen relativen Grad der Schwierigkeit hatten.

12. Es ist methodologisch unrichtig, die Versuche mit der Arbeitsperiode zu beginnen und mit der Ruheperiode abzuschließen (Speck), da der Einfluß geistiger Arbeit auf den Gaswechsel nicht plötzlich aufhört.

13. Es ist meistenteils unmöglich, den Einfluß geistiger Arbeit in ihrer normalen professionellen Umgebung zu untersuchen, wenn man den Gaswechsel während der Arbeitsleistung selbst mißt — z. B. bei Vorlesungen, Singen u. dgl. Mit Hilfe der von uns festgestellten „Nachwirkung" geistiger Arbeit, ist es möglich den Einfluß der geistigen Arbeit auf den Gaswechsel sofort nach vollführter Arbeit mit einer bestimmten Annäherung zu messen. Durch diese „Nachwirkungsmethode" konnten wir den Einfluß von Examinieren und Vorlesungen untersuchen; diese Methode wird es erlauben, den Einfluß anderer geistiger Professionen (Gesang, Deklamation usw.) unter ihren natürlichen Bedingungen zu untersuchen.

14. Unter dem Einfluß geistiger Arbeit wird auch der Energieumsatz, in Kalorien gemessen, gesteigert; bei Auswendiglernen von Wörtern kaum merklich (+ 0,1%), bedeutender beim Lesen (+ 7,3%); in noch größerem Maße beim Kopfrechnen von Aufgaben (+ 20,74%).

15. Unter dem Einfluß der Vorlesungen und des Examinierens wird die Wärmeproduktion relativ sehr stark erhöht (nach Vorlesen im Durchschnitt um 15,4%, nach Examinieren um 20,74%). In absoluten Zahlen ist diese Vergrößerung im Durchschnitt nicht größer als 8 Kal. pro Stunde (1—14,6 Kal.), je nach der Intensität der vollführten Arbeit.

16. Die Zunahme des Gaswechsels und der Wärmeproduktion unter em Einfluß der geistigen Arbeit ist auf zwei zurzeit voneinander nicht ennbaren Komponenten zurückzuführen, die geistige Arbeit selbst nd ihr physiologisches Äquivalent; d. h. auf die bereits festgestellte Steierung des Stoffwechsels im Nervensystem selbst und auf physiologische eränderungen in anderen Organen.

17. Bei Untersuchungen auf dem Gebiete der Hygiene der intellekuellen Professionen unter normalen Bedingungen ist gerade dieser summasche Einfluß der geistigen Arbeit auf den Gaswechsel von Interesse, cht aber die Einzelwirkung der bis jetzt voneinander untrennbaren omponenten.

Über die Wirkung des Wasserstoffsuperoxyds auf aerob Sporenbildner.

Von

Herwigh Rieger und **Richard Trauner.**

(Aus der Abteilung für amtsärztlichen Unterricht und Sozialhygiene des Hygi nischen Instituts der Universität Wien. Leiter: Prof. Dr. Heinrich Reichel

(Bei der Redaktion eingegangen am 23. März 1927.)

Die sog. Oxydationsmittel unterscheiden sich von den anderen Ze giften dadurch, daß ihre Wirkung nicht so sehr auf der Einführung fremd Stoffe und auf ungewöhnlichen Verlaufsarten der Vorgänge als vielme auf einer Übersteigerung der für die meisten Lebewesen normalen Ox dationsprozesse beruht, welche sonst im Tier- und Pflanzenkörper dur ein System von Fermenten geregelt werden. Innerhalb dieser Gruppe b ansprucht das Wasserstoffsuperoxyd vom Standpunkte der Praxis u der Biologie besondere Aufmerksamkeit. Es fehlt ihm im Gegensatz den anderen Oxydationsmitteln eine oxydierende Wirkung auf leblo organische Stoffe; gerade dadurch aber empfiehlt es sich als Desinfektior und Konservierungsmittel für viele Zwecke, weil seine Wirksamkeit dur Anwesenheit von Eiweiß nicht abgelenkt wird. Die lebensfeindliche ox dierende Wirkung des H_2O_2 bedarf offenbar der vermittelnden Mithil von Fermenten (Peroxydasen). Das H_2O_2 ist, obwohl ein allgemein Zellgift, wahrscheinlich selbst ein normales Zwischenprodukt des oxydativ Stoffwechsels. Seine Unschädlichmachung dürfte im Innern der Zell und in den Körpersäften durch Zerlegung mittels eines immer gege wärtigen Katalasefermentes jederzeit und rasch vor sich gehen, was offe bar zu den unerläßlichen Sicherungen der Lebenserhaltung der oxydat atmenden Zellen gehört. Diesem Umstande ist es auch zu danken, d das H_2O_2 im allgemeinen nicht resorbiert werden kann und auch in ko zentrierten Lösungen keine tieferen Ätzwirkungen hervorzurufen verm. Die Tatsache, daß der Stoff vom Peritoneum aus rasch resorbiert wi so daß es zu Gasembolien kommen kann, beweist aber immerhin sei Fähigkeit, die Zellen zu durchdringen (Honsell). Zugleich ergibt sich Frage, ob die nicht oxydativ atmenden Lebewesen und Zellen sich d Wirkung des H_2O_2 gegenüber ähnlich verhalten oder ob hier etwa grun sätzliche Verschiedenheiten vorliegen.

Aus der leichten Zerlegbarkeit des Wasserstoffsuperoxyds geht fern hervor, daß die zu Desinfektionszwecken damit versetzten Flüssigkeit nach der Zerlegung des Stoffes nichts anderes als Wasser und Sauerst

enthalten, also ebensowenig einen fremden Stoff aufweisen als nach rein physikalischen Einwirkungen, soweit eben nicht Gasblasenwirkungen in Frage kommen. In vitro erfordert die Abspaltung des Sauerstoffes, wenn sie in genügendem Maße vor sich gehen soll, allerdings die Zufügung eines Katalasefermentes, das aber schon in sehr geringer Menge ausreicht. So haben Much und Römer (1906) bei der Sterilisation der Milch mit H_2O_2 durch Zusatz eines hochwirksamen Katalasefermentes vor dem Genuß den kratzenden Geschmack der konservierten Milch beseitigt. Reichel (1908) hat dann das Verfahren auf die Sterilisation des Trinkwassers angewendet und in den Desinfektionsversuchen durch Zusatz des Katalasefermentes zugleich auch eine Nachwirkung der mit dem Testmaterial in den Nährboden überimpften H_2O_2-Menge verhindert.

Obwohl das Wasserstoffsuperoxyd — vor allem für Geräte, wie Bürsten u. dgl. — ein durchaus beliebtes Desinfektionsmittel ist und auch als Wundantiseptikum und Gurgelwasser viel und gerne verwendet wird, ist doch seine eigentliche Wirkungsweise noch immer nicht geklärt und auch seine Wirksamkeit ist verhältnismäßig wenig geprüft, wie freilich überhaupt die Desinfektionswirkung der sog. Oxydationsmittel weniger erforscht ist als die anderer Desinfektionsmittel; in besonderem Maße gilt dies von der Wirksamkeit gegenüber sporentragenden Keimen.

Die alte Ansicht, daß die desinfizierende Wirkung des Wasserstoffsuperoxyds auf der durch die katalytischen Fermente erfolgenden Abspaltung des Sauerstoffes beruhe, somit als reine Wirkung des naszierenden Sauerstoffes anzusehen sei, findet sich auch heute noch vielfach vertreten, obwohl schon seit langem mit triftiger Begründung Einsprüche gegen diese Auffassung gemacht werden.

So kam Honsell (1900) durch den Vergleich der Einwirkung des H_2O_2 auf Staphylokokken in Hydrokelenflüssigkeit, in serofobrinösem Exsudat und in Eiter „zu dem Schlusse, daß ganz parallel mit der Zunahme der katalytischen Kraft des Mediums eine Abnahme des bakteriziden Vermögens des H_2O_2 einhergeht".

Auch Beck (1901) folgert aus seinen Versuchen, daß die desinfizierende Wirkung des H_2O_2 mit der Zunahme der katalytischen Kraft des betreffenden Mediums abnehme. Beck hat zu je 10 ccm Blutserum abgestufte Mengen 10proz. Lösungen einerseits von aromatischen Peroxolen, andererseits von H_2O_2 hinzugefügt und bei stärkerer Schaumbildung auch bei Zusatz von 5 ccm H_2O_2-Lösung noch Wachstum erhalten, während ein Zusatz von 4 und 5 ccm der Peroxollösungen bei geringerer Schaumbildung zur Abtötung führte.

Es spricht auch die schon von älteren Autoren festgestellte, von Reichel (1908) näher verfolgte Tatsache, daß die Wirkung des H_2O_2 an einer bestimmten Dauer der Aurechterhaltung einer bestimmten Konzentration des Mittels hängt, gegen die genannte Anschauung.

Croner (1909) führt gegen die Annahme der O-Wirkung die Tatsache an, daß das H_2O_2 in saurer Lösung stärker wirkt, obwohl diese ja der Katalyse entgegenwirkt. Er fand aber auch die schwach alkalische Lösung, welche die Katalyse beschleunigt, als etwas stärker wirksam als die streng neutrale, und kommt daher zu dem sicherlich gerechtfertigten Schluß, „daß wir über die Wirkungsweise selbst eines anscheinend so einfach zusammengesetzten Körpers wie des H_2O_2 auf Bakterien noch sehr wenig wissen".

Spiro (1915) hat gezeigt, daß auch chemische Oxydationswirkungen des H_2O_2 durch Katalyse gehemmt werden können.

Zuletzt ist Müller (1923) der Auffassung entgegengetreten, daß die H_2O_2-Wirkung an der Sauerstoffabspaltung hänge. Er verfolgte die Katalasewirkung

verschiedener Testbakterien an der Abnahme der H_2O_2-Konzentration währenc der Einwirkung und fand diese Wirkung (nach Keimzählungen beurteilt) un so schwächer, je stärker jene Abnahme war, und nimmt an, daß die längere Zeit dauer bis zur erfolgten Abtötung auf den Schutz zurückzuführen ist, den de innere Katalasegehalt der Bakterienzelle ihr gegen das eindringende H_2O_2 ver leihe.

Für die exakte Festlegung der Wirkungsbedingungen wie Konzen tration, Zeit, Temperatur und Azidität kommen die meisten älteren Ar beiten nicht in Betracht, weil sie nur die Brauchbarkeit des Verfahren für ganz bestimmte praktische Zwecke prüften.

Die bedeutende Steigerung der Wirksamkeit des H_2O_2 mit zunehmende Temperatur haben schon Pane (1890) und Chamberland und Fern bach (1893) beobachtet; Croner (1909) glaubt für H_2O_2 eine stärker Steigerung der Wirksamkeit mit steigender Temperatur als für Lysol unc für Essigsäure nachweisen zu können. Dieser Autor verfolgte auch di schon früher von Traugott (1893) und Chamberland und Fernbac (1893) beobachtete Tatsache der Steigerung der Desinfektionskraft de H_2O_2 durch Zusatz von Säure näher.

Nach Reichels (1908) an Koli- und Typhusbazillen unternommene ausgedehnten Versuchen sind zu einer in kurzen Zeiten wirksamen Trink wasserdesinfektion sehr große Dosen H_2O_2 erforderlich, während be längerer Einwirkungsdauer sehr geringe genügen, so daß die Erstrebung kurzfristiger Wirkungen wegen der hierzu nötigen Konzentration unzweck mäßig erscheinen muß. Auf Grund dieser Versuche konnte Reiche später (1909) ähnlich wie für Phenol auch für Wasserstoffsuperoxyd eine exakte Wirkungskurve aufstellen, deren Gleichung lautete: $P^{0,5} \cdot T = R$

Eine neuere Arbeit von Richet und Le Ber (1924), in der auch Wir kungskurven angegeben werden, war uns leider nicht zugänglich.

Was nun die Wirksamkeit des H_2O_2 gegen sporentragende Keime anlangt, finden sich im einschlägigen Schrifttum zwar zahlreiche Einzel angaben, aber nur wenige ausgedehnte Versuchsreihen vor, trotzdem di Verwendung des H_2O_2 als Wundantiseptikum nicht nur wegen der rein mechanischen Wirkung der Katalyse (Honsell, Spiro), sondern auch unter dem Gesichtspunkte der Wirkung auf die anaeroben Sporenträge erfolgte (Mühsam, Liebold, Czerny, Weintraud) und das H_2O_2 sowohl aus den oben angeführten biologischen Gründen als auch wegen seiner sicheren Wirkung auf widerstandsfähige Keime zur Konservierung von Nahrungsmitteln besonders geeignet ist. Die bisher vorliegenden An gaben sind in der beigegebenen Übersicht zusammengestellt.

Es erschien somit wünschenswert, genauere Feststellungen über die Wirkung des Mittels gegenüber sporenbildenden Keimen beizubringen. Zugleich bieten die zur Abtötung von Sporen nötigen hohen Zeiten gün stige Bedingungen für die Berechnung der Wirkungskurven; auch die Lösung der oben angedeuteten Frage des biologischen Unterschiedes zwi schen aeroben und anaeroben Keimen ist am ehesten an Sporen möglich, wofür aber ebenfalls die zahlenmäßige Festlegung der Wirkung auf die Aerobier Voraussetzung ist.

Zunächst soll nun in dieser Arbeit die Wirkung des Wasserstoffsuper oxyds auf aerobe Sporenbildner, und zwar auf mehrere verschiedene

I. Aerobe Sporen. a) Milzbrand.

Autor	Jahr	Konzentration in %	Zeit: höchste Anwachsungs-	Zeit: niedrigste Abtötungs-	Temperatur	Reaktion	Dampfresistenz	Methode	Präparat
Schilow		14		3′		n.		Seidenf.	Crismer
,,		8		30′		n.		,,	,,
,,	1893	3		30′		n.		,,	,,
berland u. Fernbach		3	5′	15′	15°	s.		Susp.	H. h. off.
,,		3	15′	30′	15°	n.		,,	,,
Obermüller	1895	3		3 h				,,	Katharol
aul u. Krönig	1897	3	1 h					Granaten	H. h. off.
Honsell		3	1 h	2 h		n.		Susp.[1])	Merck
,,	1900	3	1 h	2 h		n.		Granaten[1])	,,
,,		3	2 h	3 h		n.		Seidenf.[1])	,,
Pane		1,83		15 25′	26°	s.[2])		,,	Kahlbaum
,,	1890	bis		2 h	22°	s.[2])		,,	,,
,,		2,44		2½ h	19,5°	s.[2])		,,	,,
,,				4 14 h	6°	s.[2])		,,	,,
Schilow	1893	2		1 h		n.		,,	Crismer
Ambroz	1912	2		5′		n.		Seidenf.	Merck
,,		2	5′	10′		n.		,,	Pergenol
Honsell		1,5	2 h	3 h		n.		Susp.[1])	Merck
,,	1900	1,5	2 h	3 h		n.		Granaten[1])	,,
,,		1,5	3 h			n.		Seidenf.[1])	,,
Hilgermann	1905	1,5		50′			3′	Seidenf.	H. h. off.
Pane	1890	1		1 h	26-28°	s.[2])		,,	Kahlbaum
Schilow	1893	1	1 h			n.		,,	Crismer
Ambroz		1		5′		s.		,,	Hyperol
,,	1912			15′		n.		,,	Merck
,,		1	45′	1 h				,,	Pergenol
Schilow	1893	0,5		18 h		n.		,,	Crismer
Ambroz	1912	0,5		15′		s.		,,	Pergenol
Schilow	1893	0,25		18 h		n.		,,	Crismer

b) Subtilis.

Autor	Jahr	Konzentration in %	Zeit: höchste Anwachsungs-	Zeit: niedrigste Abtötungs-	Temperatur	Reaktion	Dampfresistenz	Methode	Präparat
berland u. Fernbach		3	15′	30′	50°	s.	1 h	Susp.	H. h. off.
,, ,,		3	30′	1 h	50°	s.	1 h	,,	,,
,, ,,		3	3 h		15°	n.	1 h	,,	,,
,, ,,		3	15′	30′	75°	s.	1 h	Glas-	,,
,, ,,	1893	3	30′	1 h	75°	n.	1 h	plättchen	,,
,, ,,		3	15′	30′	50°	s.	1 h	,,	,,
,, ,,		3	1 h	2 h	50°	n.	1 h	,,	,,
,, ,,		3	1 h	2 h	15°	s.	1 h	,,	,,
,, ,,		3	2 h		15°	n.	1 h	,,	,,
Croner	1909	0,5	85′	105′	37°	n.	¾ h	Seidenf.	Merck

II. Anaerobe Sporen. Tetanus.

Autor	Jahr	Konzentration in %	Zeit: höchste Anwachsungs-	Zeit: niedrigste Abtötungs-	Temperatur	Reaktion	Dampfresistenz	Methode	Präparat
Moll		30	3′	5′		n.	70′	Granaten [3])	Merck
,,	1920	3	100′	2 h		n.	70′	,, [3])	,,
,,		2	3 h	24 h		n.	70′	,, [3])	,,
,,		1	3 h	24 h		n.	70′	,, [3])	,,

mit Platinmoor. — 2) 0,03—0,07 % HCl.
mit Zusatz von 0,1 % Azetanilid.

Bakterienarten und mehrere Stämme einer Art, darunter auch auf Milz-brandsporen, in ihrer Abhängigkeit von der Konzentration gemessen werden. Hierbei ist auch klarzustellen, ob das Mittel auf die verschiedenen Arten gleichartig oder verschieden wirkt und ob die Wirkungen des Wasser-stoffsuperoxyds und des Dampfes gleichsinnig verlaufen.

Wir prüften seine Wirkung auf fünf Bakterienstämme, und zwar auf je einen Subtilis-, Mesentericus- und Milzbrandstamm sowie auf zwei Vulgatus-stämme. Milzbrand und Subtilis waren seit einem Jahre im hygienischen Uni-versitätsinstitute Wien fortgezüchtet, die anderen frisch aus Gartenerde ge-wonnen worden.

Die Versuche wurden teils mit beimpften Seidenfäden, teils mit Sporen-suspensionen gemacht und sämtlich bei Zimmertemperatur mit Perhydrol Merck durchgeführt, dessen Titration 34% ergab. Bei den Fädenversuchen wurde stets ein Drittel eines Fadens von etwa 1½ cm Länge der Superoxydlösung ausgesetzt, von den Aufschwemmungen 1 ccm zur gleichen Menge der doppeltkonzentrierten Desinfektionslösung zugefügt. Dabei wurden in den ersten Versuchen zwe Normalösen, in den späteren 0,2 ccm des Gemisches in Zuckerbouillon überimpft.

Wir legten zwei Versuchsreihen an: In der einen fügten wir 3 Tropfen eines Katalasefermentes (Hepin der Behringwerke) sogleich nach der Überimpfung hin zu, bei der anderen nicht, so daß in diesem Falle eine Nachwirkung der geringen mitüberimpften Superoxydmenge nicht auszuschließen war.

In jedem Versuche wurde meistens mit sechs verschiedenen Verdünnungen des Mittels und mit 6 Überimpfungen gearbeitet; je drei Überimpfungszeiten waren über und unter die erwartete Abtötungszeit gelegt. Als Überimpfungs-zeiten wurden Glieder einer geometrischen Reihe gewählt, deren Abstufung 4/ betrug.

Von jedem Stamme wurde die Dampfresistenz der Sporen und bei jedem der Versuche die Keimzahl in 1 ccm der Aufschwemmung oder auf einem Faden bestimmt. Daß die Keimzahl genügend hoch war, um das Ergebnis der Ver-suche nicht mehr zu beeinflussen, wurde durch besondere Versuche ermittelt, in denen Teilstücke eines Fadens (bis zu $^1/_{16}$) mit unverändertem Ergebnis Ver-wendung fanden. Die Versuche waren Endversuche, d. h. es wurde nicht die Zahl der überlebenden Keime, sondern die Tatsache des Überlebens oder Nicht-überlebens festgestellt. Die Ergebnisse wurden nach mehreren Tagen abgelesen, auffällige Befunde hinsichtlich etwaiger Verunreinigung durch weitere Kultu überprüft.

Es wurden zunächst für jeden Stamm etwa 6—10 Vorversuche — meist mit Seidenfäden — angestellt, die aber bald bei der einen, bald be der anderen Konzentration die Wirkungsgrenze nicht erkennen ließen, so daß sie sich für eine genauere Berechnung wenig geeignet hätten. Wi geben nur das Protokoll von vier Vorversuchen wieder, jedoch das alle Hauptversuche, d. h. jener, die in fast allen Konzentrationen eine ver-wertbare Grenze ergeben haben.

Zur Zusammenfassung der Versuchsergebnisse war nun die in diese Form von Reichel angegebene allgemeine Wirkungsgleichung $P^n . T = I$ zu berechnen, wozu die Ausgleichs- und Fehlerrechnung in der vor kurzem von Reichel und Rieger (1927) angegebenen Weise herangezogen wurde. Da in unseren Versuchen für Zeit und Konzentration verschiedene Schritte verwendet worden waren, gestaltete sich die Berechnung nicht ganz so einfach als in dem dort gewählten Beispiele, sie konnte jedoch ohne weiteres nach der für diesen Fall angegebenen Verfahrungsweise vorgenommen werden.

Zur graphischen Darstellung der Einzelversuche benutzten wir auch hier mit Vorteil das quadratisch geteilte Versuchsprotokoll, das in jede

A. Fädenversuche.

%	1,0	1,34	1,8	2,4	3,2	4,2	5,6	7,5	10	13,4	18	24	32	42	56	75	100	134	180	240	320	420	560	750	1000	1340	1800	2400	3200	4200	5600	7500	10000
I. Milzbrand (1. Versuch).																																	
2,125	+				+				+		—		—		—																		
1,0625	+								+				+	—	—	—	—																
0,531																+			—		—		—	—	—								
0,265																	+				—		—	—	—			—					
II. Milzbrand (2. Versuch).																																	
2,125							+		+		+		—		—		—																
1,0625												+			+		—		—														
0,531										+					+		+			—		—											
B. Suspensionsversuche.																																	
III. Mesentericus.																																	
17					+	+	+		—		—		—																				
8,5							+		+		—		—		—																		
4,25							+		+			+		+	+		—																
2,125												+		+		+			+		—	—											
1,0625																+			+		+	+		—		—	—						
IV. Subtilis.																																	
17					+	+	+		—	—	—																						
8,5							+		+		—	—	—	—																			
4,25										+		+	+		+	—																	
2,125													+			+			+		—												
1,0625																	+		+		+		—		—		—						

2. Hauptversuche (sämtlich Suspensionsversuche):

A. Ohne Zusatz von Hepin.

I. Mesentericus (1. Versuch).

%	1,0	1,34	1,8	2,4	3,2	4,2	5,6	7,5	10	13,4	18	24	32	42	56	75	100	134	180	240	320	420	560	750	1000	1340	1800	2400	3200	4200	5600	7500	10000
17		—					—		—																								
8,5							+		+		+	+	—			—																	
4,25									+				—			+		—			—												
2,125																+			+			—		—		—		—					
1,0625																	+				+	+		—		—		—					

Keimzahl: 3 Milliarden in 1 ccm. Dampfresistenz: $3^1/_2$ Minuten.

II. Mesentericus (2. Versuch).

%	1,0	1,34	1,8	2,4	3,2	4,2	5,6	7,5	10	13,4	18	24	32	42	56	75	100	134	180	240	320	420	560	750	1000	1340	1800	2400	3200	4200	5600	7500	10000
17	+				+	+	—	—		—		—																					
8,5							+		+		+		+		—																		
4,25													+		+		—	—		—													
2,125																		+	+		—		—		—								
1,0625																			+		+		+		—		—						

Keimzahl: 51 Milliarden in 1 ccm. Dampfresistenz: $3^1/_2$ Minuten.

III. Subtilis.

%	1,0	1,34	1,8	2,4	3,2	4,2	5,6	7,5	10	13,4	18	24	32	42	56	75	100	134	180	240	320	420	560	750	1000	1340	1800	2400	3200	4200	5600	7500	10000
17	+					+	—		—																								
8,5								—		—		—			—																		
4,25											+		+		—		—		—														
2,125															+		+		—		—		—		—								
1,0625																			+		+		—		—		—						

Keimzahl: 100 Millionen in 1 ccm. Dampfresistenz: $^1/_2$ Minuten.

IV. Vulgatus (Stamm II).

%	1,0	1,34	1,8	2,4	3,2	4,2	5,6	7,5	10	13,4	18	24	32	42	56	75	100	134	180	240	320	420	560	750	1000	1340	1800	2400	3200	4200	5600	7500	10000
17	+		—	+		+		+	+		—																						
8,5										+		+	+	+		—		—															
4,25																+	+	+		—		—		—									
2,125															+		+				+	+	+		—		—			—			
1,0625																									—		—		—	—		—	

Keimzahl: 1 Milliarde in 1 ccm. Dampfresistenz: $1^1/_2$ Stunden.

V. Vulgatus (Stamm III).

%	1,0	1,34	1,8	2,4	3,2	4,2	5,6	7,5	10	13,4	18	24	32	42	56	75	100	134	180	240	320	420	560	750	1000	1340	1800	2400	3200	4200	5600	7500	10000
17	+			+		+																											
8,5										+		+	+	+		—		—															
4,25																+	+	—	+	—		—		—									
2,125															+		+				+	+	+		—		—			—			
1,0625																									—		—		—	—		—	

Keimzahl: 1 Milliarde in 1 ccm. Dampfresistenz: $^1/_4$ Stunde.

VI. Milzbrand (1. Versuch).

%	1,0	1,34	1,8	2,4	3,2	4,2	5,6	7,5	10	13,4	18	24	32	42	56	75	100	134	180	240	320	420	560	750	1000	1340	1800	2400	3200	4200	5600	7500	10000
4,25	+								+		+		—				—																
2,125									+				+		+		—		—														
1,0625									+						+			+		—			—			—							
0,53125									+						+			—			+		—			—							

2. Hauptversuche (Fortsetzung).

VII. Milzbrand (2. Versuch).

4,25					+						−																						
2,125							+			+		+		+			−																
1,0625										+							+		−														
0,53125															+			+		−													
0,265																		+			+		+				−						

Keimzahl: nicht festgestellt; ähnlich Versuch VI. Dampfresistenz: $^1/_2$ Minute.

B. Mit Zusatz von Hepin.

VIII. Mesentericus (1. Versuch).

17,0															+		−		−		−		−		−								
8,5																	+		−		−		−		−								
4,25																					+		−			−	−		−				
2,125																					+		+		−		−		−				
1,0625																					+		+		+	+		−					

Keimzahl: 1 Milliarde in 1 ccm. Dampfresistenz: $3^1/_2$ Minuten.

IX. Mesentericus (2. Versuch).

17,0											+		+	+	−	−		−															
8,5															+			−	−		−												
4,25																			+		−		−		−			−					
2,125																					+		+		−		−		−				
1,0625																							+		+				−				

Keimzahl: 51 Milliarden in 1 ccm. Dampfresistenz: $3^1/_2$ Minuten.

X. Vulgatus (Stamm II).

17,0												+		+	+		+		−														
8,5															+		+	+	+		−												
4,25																		+		+	+		−		−		−						
2,125																						+		+	−	−		−					
1,0625																										+		+	−		−		−

Keimzahl: 11 Milliarden in 1 ccm. Dampfresistenz: 1 ½ Stunden.

der beiden Richtungen ein Logarithmensystem mit der Basis der gewählten Abstufung vorstellt, wobei nur zu beachten bleibt, daß graphisch gleichen Zeit- und Konzentrationsschritten verschiedene rechnerische Werte entsprechen. In unserem Falle ist also die Einheit auf der Ordinatenachse der dekadische Logarithmus von 4/3, die Einheit auf der Abszissenachse der dekadische Logarithmus von 2. Das Bild der logarithmisch gezeichneten Wirkungsgleichung entspricht dann einer Geraden, die sich der Schar der Beobachtungspunkte am besten anpaßt, d. h. jener Geraden, welche den Schwarm der +- und —-Zeichen des Protokolls, so gut es geht, scheidet. Die Neigung dieser Geraden ($tg\,a$) ist der Richtungswert (n) der Gleichung.

Da wir nicht von der Konzentration 1, sondern von der praktisch gegebenen Konzentration von 34% ausgingen, ergaben sich für die Werte von $p = \log_2 P$ zwar geringe, aber doch zu berücksichtigende Abweichungen von den Ziffern der einfachen Zahlenreihe (statt 0, 1, 2, 3 usw. . . . 0,087, 1,087, 2,087, 3,087 usw.).

Der Gewichtswert 1 wurde dem in den Versuchen vorwiegend verwendeten Intervall von zwei Schritten zugeteilt, den Intervallen anderer Ausdehnung die ihrem Größenverhältnis entsprechenden Werte: So wurde dem Intervall von nur einem Schritte der doppelte Gewichtswert, einem 3 oder 4 Schritte umfassenden Intervall der Gewichtswert von 2/3 oder 2/4 zuerkannt, da dessen Größe sich zu der des geplanten Intervalles wie 3:2 oder wie 4:2 verhält. Dieser verschiedene Gewichtswert einzelner Beobachtungen mußte natürlich auch in der Rechnung entsprechend berücksichtigt werden. Es sei daher im nachfolgenden ein Beispiel eines Versuches mit verschiedengewichtigen Einzelbeobachtungen wiedergegeben.

Zur Berechnung der Schwerpunktskoordinaten hat statt der Summe der einfachen p- oder t-Werte die Summe der mit ihrem Gewichte multiplizierten p- oder t-Werte verwendet zu werden, die dann, durch die Summe der Gewichte der Einzelbeobachtungen dividiert, die Schwerpunktskoordinaten (p_s, t_s) ergeben.

P %	p	π	πp	$T_a - T_b$ (Minuten)	t	π	πt
1,0625	0,087	$^1/_2$	0,044	1000—3200	26,0	$^1/_2$	13,0
2,125	1,087	1	1,087	560—1000	23,0	1	23,0
4,25	2,087	1	2,087	180— 320	19,0	1	19,0
8,50	3,087	$^2/_3$	2,058	56— 134	15,5	$^2/_3$	10,3
17,00	4,087	2	8,174	42— 56	13,5	2	27,0

$\Sigma\pi = 5{,}1667$; $\Sigma\pi p = 13{,}455$ $\qquad$ $\Sigma\pi = 5{,}1667$; $\Sigma\pi t = 92{,}3$

$p_s = 2{,}603$ $\qquad$ $t_s = 17{,}871$

$P_s = 6{,}075$ $\qquad$ $T_s = 170{,}92$.

Die Werte für $\mathfrak{p}$ und $\mathfrak{t}$ errechnen sich wie sonst als $p - p_s$ und $t - t_s$. Zur Berechnung von n hat wieder nicht die Summe der einfachen Werte von $\mathfrak{p}^2$ und $\mathfrak{pt}$ gebildet zu werden, sondern die Summe der mit ihrem Gewichte multiplizierten Werte von $\mathfrak{p}^2$ und $\mathfrak{pt}$. Der zunächst gewonnene Wert (n') entspricht zwar der graphischen Darstellung, der richtige n-Wert ist aber aus diesem erst durch Multiplikation mit dem Verhältnisse der

Einheit für Zeit und Konzentration (in unserem Falle also mit einem Faktor $k = \frac{\log 4/3}{\log 2} = 0{,}4150$) zu erhalten.

$\mathfrak{p}$	$\mathfrak{t}$	$\mathfrak{p}^2$	$\pi\mathfrak{p}^2$	$\mathfrak{p}\mathfrak{t}$	$\pi\mathfrak{p}\mathfrak{t}$
— 2,516	+ 8,129	6,330	3,165	— 20,453	— 10,227
— 1,516	+ 5,129	2,298	2,298	— 7,776	— 7,776
— 0,516	+ 1,129	0,266	0,266	— 0,582	— 0,582
+ 0,484	— 2,371	0,234	0,156	— 1,148	— 0,765
+ 1,484	— 4,371	2,203	4,406	— 6,473	— 12,946
			$\Sigma\pi\mathfrak{p}^2 = 10{,}291$		$\Sigma\pi\mathfrak{p}\mathfrak{t} = -32{,}296$

$$n' = \frac{-\Sigma\pi\mathfrak{p}\mathfrak{t}}{\Sigma\pi\mathfrak{p}^2} = 3{,}1383; \quad n = n' \cdot k = 1{,}3024.$$

Der Wert für r wird unter Benutzung des n'-Wertes berechnet, und zwar in Einheiten der Zeitabstufung.

$$r = n' \cdot p_s + t_s = 3{,}138 \times 2{,}603 + 17{,}871 = 26{,}04; \ \log R = 3{,}2536; \ R = 1793.$$

Bei der Durchführung der Fehlerrechnung ist die Null betragende Summe der Fehler der Einzelbeobachtungen von den mit ihrem Gewichte multiplizierten Werten zu bilden; ebenso ist die Fehlerquadratsumme aus den mit ihren Gewichten multiplizierten Quadraten der auf gewöhnliche Weise gewonnenen Werte der Fehler der Einzelbeobachtungen zu errechnen. Die Formel des Fehlers der Einzelbeobachtung lautet:

$$f = t - (r' - n' \cdot p).$$

	f	πf	f^2	πf^2
26 — (26,041 — 3,138 × 0,087) =	+ 0,236	+ 0,118	0,0557	0,0279
23 — (26,041 — 3,138 × 1,087) =	+ 0,371	+ 0,371	0,1377	0,1377
19 — (26,041 — 3,138 × 2,087) =	— 0,490	— 0,490	0,2401	0,2401
15,5 — (26,041 — 3,138 × 3,087) =	— 0,841	— 0,561	0,7073	0,4715
13,5 — (26,041 — 3,138 × 4,087) =	+ 0,285	+ 0,570	0,0812	0,1624
				$\Sigma(\pi f^2) = 1{,}0396$

Der mittlere Fehler des Versuches ergibt sich dann als

$$m_t = \sqrt{\frac{\Sigma\pi f^2}{\Sigma\pi - 2}} = \sqrt{\frac{1{,}0396}{3{,}1667}} = \pm\, 0{,}5730$$

in Einheiten der Zeitabstufung; daraus folgt $m_{\log T} = \pm 0{,}0716$, dessen Numerus 1,1792 oder 0,8480 lautet. Der verhältnismäßige mittlere Fehler des T-Wertes beträgt also das 1,179fache nach oben und das 0,848fache nach unten, oder der T-Wert schwankt nach oben und unten um 17,9 und 15,2%, im Mittel um 16,55% seines Wertes.

Für die Berechnung der Gewichtswerte von n und r ist die Summe der mit ihrem Gewichte multiplizierten p-Werte und die Summe der mit ihrem Gewichte multiplizierten p^2-Werte zu bilden, statt der Summe der Einzelbeobachtungen ist die Summe von deren Gewichtswerten einzusetzen, so daß dann die Formeln lauten:

$$\Pi_n = \Sigma(\pi p^2) - \frac{(\Sigma\pi p)^2}{\Sigma\pi}; \quad \Pi_r = \Sigma\pi - \frac{(\Sigma\pi p)^2}{\Sigma(\pi p^2)}.$$

p	p^2	π	πp^2
0,087	0,077	$^1/_2$	0,004
1,087	1,182	1	1,182
2,087	4,357	1	4,357
3,087	9,532	$^2/_3$	6,355
4,087	16,703	2	33,406

$$\Sigma\pi = 5{,}1667;\ \Sigma(\pi p^2) = 45{,}304;$$

$$\Sigma\pi p = 13{,}450;\ (\Sigma\pi p)^2 = 180{,}90.$$

$$\Pi_n = 45{,}304 - \frac{180{,}90}{5{,}1667} = 45{,}304 - 35{,}013 = 10{,}291;$$

$$\Pi_r = 5{,}1667 - \frac{180{,}90}{45{,}304} = 5{,}1667 - 3{,}9930 = 1{,}1737;$$

Den mittleren Fehler für n'

$$M_{n'} = \frac{m_t}{\sqrt{\Pi_n}}$$

erhält man in der gleichen Einheit wie n', den für r

$$M_r = \frac{m_t}{\sqrt{\Pi_r}}$$

in der Einheit der Zeitabstufung. Aus

$$M_{n'} = \frac{\pm 0{,}5730}{\sqrt{10{,}291}} = \pm\ 0{,}1786$$

errechnet sich dann der mittlere Fehler für n durch Multiplikation mit

$$k = 0{,}4150 \text{ als } M_n = \pm\ 0{,}0741.$$

Der mittlere Fehler von r ergibt sich als $M_r = \frac{\pm 0{,}5730}{\sqrt{1{,}1737}} = \pm 0{,}528$

woraus durch Multiplikation mit dem Logarithmus der Zeitabstufung de Wert für den Logarithmus des mittleren Fehlers von R gewonnen wir (log $M_R = + 0{,}06592$ oder $0{,}93408 - 1$). Daraus folgt für R eine Schwan kungsbreite um das 1,1639fache seines Wertes nach oben (das sind 16,39% und um das 0,8592fache nach unten (das sind 14,08%). Die durchschnitt liche Schwankungsbreite beträgt also 15,24%.

Das Ergebnis unseres Versuches lautet somit:

$$n = 1{,}3024 \pm 0{,}0741;\ R = 1793\ (\pm\ 15{,}24\%).$$

In dieser Weise berechnet, ergaben sich für sämtliche Versuche di folgenden Werte:

1. Versuche ohne Hepin.

I.	Vulgatus, 1. Versuch:	$n = 1{,}909 \pm 0{,}058$;	$R = 3076\ (\pm 11{,}34\%)$
II.	„ 2. Versuch:	$n = 1{,}868 \pm 0$;	$R = 3069\ (\pm 0\%)$
III.	Subtilis:	$n = 1{,}602 \pm 0{,}015$;	$R = 450{,}3\ (\pm 2{,}74\%)$
IV.	Mesentericus, 1. Vers.:	$n = 1{,}474 \pm 0{,}118$;	$R = 697{,}6\ (\pm 18{,}73\%)$
V.	Mesentericus, 2. Vers.:	$n = 1{,}774 \pm 0{,}154$;	$R = 957{,}7\ (\pm 30{,}76\%)$
VI.	Milzbrand, 1. Versuch:	$n = 1{,}245 \pm 0{,}083$;	$R = 171{,}0\ (\pm 7{,}92\%)$
VII.	„ 2. Versuch:	$n = 1{,}132 \pm 0{,}288$;	$R = 131{,}9\ (\pm 20{,}97\%)$

2. Versuche mit Hepin.

VIII. Vulgatus: $n = 1{,}085 \pm 0{,}082$; $R = 2407$ ($\pm$ 12,43 %).
IX. Mesentericus, 1. Vers.: $n = 1{,}162 \pm 0{,}068$; $R = 1909$ ($\pm$ 11,89 %).
X. Mesentericus, 2. Vers.: $n = 1{,}302 \pm 0{,}074$; $R = 1793$ ($\pm$ 15,24 %).

Die Mittelung der Werte nach der bei Reichel und Rieger angewendeten Methode ergab:

1. Versuche ohne Hepin.

1. Vulgatus: $n = 1{,}8973 \pm 0{,}0185$; $R = 3074{,}5$ ($\pm$ 0,41%).
2. Subtilis: $n = 1{,}6019 \pm 0{,}0145$; $R = 450{,}3$ ($\pm$ 2,74%).
3. Mesentericus: $n = 1{,}6745 \pm 0{,}1412$; $R = 834{,}5$ ($\pm$ 15,87%).
4. Milzbrand: $n = 1{,}2183 \pm 0{,}0480$; $R = 155{,}8$ ($\pm$ 12,52%).

2. Versuche mit Hepin.

1. Vulgatus: $n = 1{,}0852 \pm 0{,}0824$; $R = 2407$ ($\pm$ 12,43 %).
2. Mesentericus: $n = 1{,}2332 \pm 0{,}0236$; $R = 1854$ ($\pm$ 2,91%).

Was die Wirkung auf die einzelnen Bakterienarten anlangt, ergibt sich also Vulgatus als am meisten, Milzbrand als am wenigsten resistent, Subtilis und Mesentericus als in der Mitte liegend. Gegenüber der Wirkung des strömenden Wasserdampfes ist das gleiche der Fall, nur weist Vulgatus dort eine bedeutend höhere Resistenz als die anderen Arten auf. Die Unterschiede in der Widerstandsfähigkeit der geprüften Arten sind also gegen die H_2O_2-Wirkung geringer als gegen die des Dampfes.

Die Wirkungskurve des H_2O_2 gegenüber Vulgatus, Mesentericus und Subtilis ohne Hepinzusatz laufen annähernd parallel. Die n-Werte des Vulgatus und des Subtilis liegen zwar weiter auseinander als ihr dreifacher mittlerer Fehler reicht, scheinen sich somit wohl auszuschließen; die gute Übereinstimmung dieser wenigen Werte dürfte aber eher doch ebenso wie das Auseinanderfallen der beiden n-Werte für Mesentericus, von denen der eine dem Vulgatus, der andere dem Subtilis näher steht, auf Zufall beruhen.

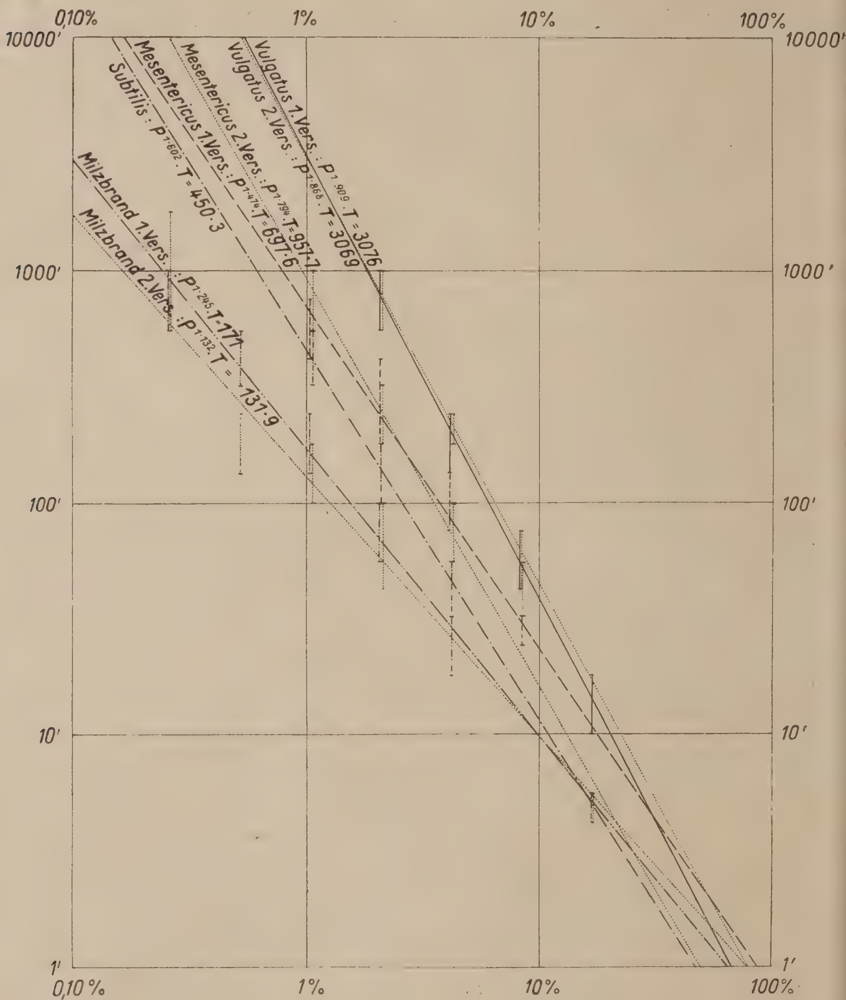
Es erscheint damit berechtigt, auch für die Versuche dieser drei Arten einen gemeinsamen mittleren n-Wert zu berechnen; er lautet:

$$n = 1{,}6906 \pm 0{,}0712.$$

Diesem Werte gegenüber erscheint nun der Richtungswert ($n = 1{,}2183 \pm 0{,}0480$) der deutlich flacher verlaufenden Kurve für Milzbrand, für welchen nur Versuche ohne Hepin vorliegen, sicher abzuweichen. Im großen und ganzen scheint danach die Steilheit der Kurven mit der Höhe der Widerstandsfähigkeit zuzunehmen, das heißt, je widerstandsfähiger ein Keimmaterial ist, desto langsamer wird es von niedrigen Konzentrationen abgetötet, während in den höchsten Konzentrationen die Abtötungszeiten auch verschieden widerstandsfähiger Keime stets nahe beieinander liegen.

In den Versuchen mit Hepin ist die Widerstandsfähigkeit der beiden untersuchten Arten Mesentericus und Vulgatus ähnlich wie in den Versuchen ohne Hepin. Die Abtötungszeiten sind in den höheren Konzentrationen wesentlich länger als in den Versuchen ohne Hepin, in den

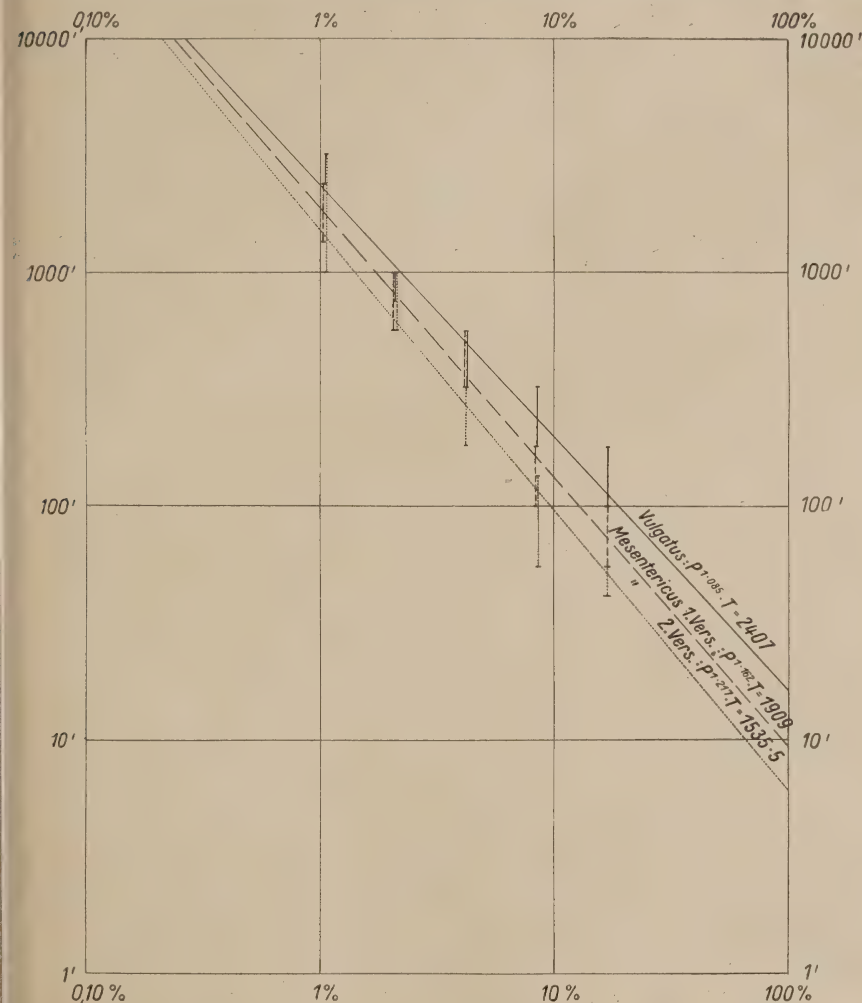
niedrigen Konzentrationen dagegen decken sich die Ergebnisse beider Versuchsreihen annähernd, so daß die Wirkungskurven in der zweiten Reihe wesentlich flacher als in der ersten verlaufen, und zwar für die beiden Arten nahezu übereinstimmend. Die n- und R-Werte reichen hier nicht in genügendem Maße voneinander ab, um unterschieden werden



zu können. Der flache Verlauf bei annähernd ähnlichen R-Werten bedeutet, daß die Abtötungszeiten sich bei den niedrigen Konzentrationen (bei rund 1%) weniger, bei höheren stärker unterscheiden, und zwar mit Hepinanwendung als wesentlich länger scheinen als sonst. Das kann wohl so erklärt werden, daß in den Versuchen mit höheren Konzentrationen das mitübertragene Mittel eine stärkere nachwirkende Desinfektionskraft

ntfaltet als in den Versuchen mit niedrigen Konzentrationen, so daß hne Entgiftung nur in jenen eine höhere Wirkung zustande kommt.

Die seinerzeit von Reichel gefundenen Kurven für Typhus- und Kolibakterien, welche mit unseren Hepinversuchen verglichen werden können, verlaufen bei viel geringerer Resistenz wesentlich flacher, und



war so, daß die Abtötungszeiten für höhere Konzentrationen sich denen ler Sporen nähern; im ganzen gilt also auch hier ebenso wie beim Vergleich der Milzbrandkurve mit den anderen Versuchen ohne Hepin, daß lie Kurven um so flacher verlaufen, je weniger widerstandsfähig das Keimmaterial ist. Dies bedeutet, daß sich für höhere Konzentrationen lie Abtötungszeiten der einzelnen Arten nähern, während sie für die niedrigen weit auseinander klaffen.

Dieser Verlauf der Wirkungskurven scheint einer gewissen Deutung zugänglich.

Die Abtötungsdauer bis zur erfolgten Abtötung setzt sich im allgemeinen aus zwei nicht getrennt beobachtbaren Zeiten, der Eindringungszeit des Mittels und der eigentlichen Wirkungsdauer des Giftes im Innern der Zelle zusammen. Die Eindringungsdauer darf einerseits immer als verkehrt proportional der Konzentration gelten, anderseits als abhängig von der Resistenz der Keime. Die eigentliche Wirkungsdauer muß hingegen von der Konzentration nicht abhängig sein, weil ja auch die chemische Bindungsgröße von dieser nicht abhängt. Der flache, wenig geneigte Verlauf einer Wirkungskurve bedeutet nun eine geringe, ein steiler Verlauf eine hohe Abhängigkeit der Abtötungsdauer von der Konzentration. Bei flachem Verlaufe ist anzunehmen, daß neben der Eindringungszeit auch die Dauer innerer chemischer Vorgänge die Gesamtdauer bestimmt, was also im vorliegenden Falle für die mindest resistenten Keimarten vermutet werden muß. Je weniger die Dauer solcher innerer chemischer Vorgänge neben der Eindringungsdauer ins Gewicht fällt, desto genauer verkehrt proportional wird die Gesamtdauer der Konzentration zu erwarten sein, wie das auch für die hoch resistenten Keimarten tatsächlich zutrifft, besonders wenn die scheinbar verkürzte Einwirkungsdauer der bei hoher Konzentration gewonnenen Werte durch Entgiftung auf ihr richtiges Maß gebracht wurde. Hier verschwindet die für die innere Wirkung erforderliche Zeit neben der langen Eindringungsdauer, so daß eben die der letzteren fast gleich zu setzende Abtötungsdauer der Konzentration verkehrt proportional wird.

Zusammenfassung.

Es wurde die Desinfektionswirkung des H_2O_2 in ihrer Abhängigkeit von Zeit und Konzentration auf Subtilis-, Mesentericus-, Vulgatus- und Milzbrandsporen ohne und mit Entgiftung durch Hepin geprüft und vergleichbar berechnet. Das H_2O_2 weist danach eine gute sporizide Wirkung auf, die mit der des Dampfes gleichsinnig verläuft. Die Wirkungskurven gegenüber sämtlichen Stämmen verlaufen in logarithmischer Darstellung nur mäßig steil, was bedeutet, daß mit H_2O_2 auch in höchsten Konzentrationen keine ganz kurzen Abtötungszeiten zu erreichen sind, während bei längerer Einwirkungsdauer geringe Konzentrationen genügen. Die Kurven der weniger resistenten Keime verlaufen flacher als die der resistenteren: Der Neigungswinkel der Kurve, also der Richtungswert der Gleichung, wächst demnach mit der Resistenz des Testmaterials. Aus der Verlaufsart der Kurven können gewisse Schlüsse auf die Wirkung des H_2O_2 abgeleitet werden.

Literatur.

\. Ambroz, Vergleichende Untersuchungen über die bakterizide Wirkung einiger Wasserstoffsuperoxyd-Präparate, Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 72, 470, 1912.
ı1. Beck, Über die desinfizierenden Eigenschaften der Peroxyde, Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 37, 294, 1901.
'h. Chamberland u. E. Fernbach, La Desinfection des Locaux. Annales de L'institut Pasteur, 1923, 6, 433.
'. Croner, Über das bakterizide Verhalten des Wasserstoffsuperoxyds unter verschiedenen physikalischen und chemischen Bedingungen usw. Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 63, 319, 1909.
'. Hilgermann, Wasserstoffsuperoxyd als Reinigungs- und Desinfektionsmittel im Friseurgewerbe, Arch. f. Hyg. 54, 40, 1905.
3. Honsell, Experimentelle und klinische Untersuchungen über die Verwertbarkeit des Wasserstoffsuperoxydes in der Chirurgie. Beiträge zur Chirurgie 27, 127, 1900.
3. Krönig u. Th. Paul, Die chemischen Grundlagen der Lehre von der Giftwirkung und Desinfektion. Ztschr. f. Hyg. 25, 1, 1897.
'h. Moll, Untersuchungen über die Wirksamkeit einiger chemischer Desinfektionsmittel auf Tetanussporen. Dissertation Gießen 1920.
luch u. Römer, Ein Verfahren zur Gewinnung einer von lebensfähigen Keimen freien, in ihren gemeinen Eigenschaften im wesentlichen unveränderten Kuhmilch, Beitr. z. Tuberkulose, 5, 349, 1906.
ı. Müller, Ist das unzersetzte Wasserstoffsuperoxyd oder der aus ihm abgespaltene Sauerstoff Träger der Desinfektionswirkung. Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 93, 348, 1921.
)bermüller, Deutsche Ärztezeitung 1895, Nr. 5 (zit. nach Honsell).
'ane, Sull azione antisettica dell'aqua ossigenata e sull'influenza della temperatura sulla desinfezione. Annali dell'instituto d'igiene dell'universita di Roma, 1890, S. II. V. II. p. 47. Bulletino della Reale Accad. di Roma, 1890, 1. (zit. nach Traugott, Honsell, Chamberland und Fernbach).
I. Reichel, Die Trinkwasserdesinfektion durch Wasserstoffsuperoxyd, Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 61, 49, 1908.
I. Reichel, Zur Theorie der Desinfektion, Biochem. Ztschr. 22, 149, 1909.
I. Reichel, Entkeimung im Kraus-Uhlenhutschen Handbuch der mikrobiologischen Technik.
I. Reichel u. H. Rieger, Die Ausgleichs- und Fehlerrechnung bei Desinfektionsversuchen, Arch. f. Hyg. 1, 1927.
chilow, Über den Einfluß des Wasserstoffsuperoxyds auf einige pathogene Mikroorganismen. St. Petersburger med. Wochenschrift 1894, 6, 50.
. Spiro, Die Wirkung von Wasserstoffsuperoxyd und von Zucker auf die Anaerobier, M. m. W. 1915, S. 497.
. Traugott, Einige Ergänzungen zur Praxis der Desinfektion, Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 14, 427, 1893.

Am 28. April ds. Js. ist in Paris eine internationale Gesell
schaft für Mikrobiologie gegründet worden. Zum Vorsitzen
den der Gesellschaft wurde Prof. Bordet, Brüssel, zu Schriftführern Pro
R. Kraus, Wien (Generalsekretär), Prof. Dujarric de la Rivière, Paris
Prof. E. Gildemeister, Berlin, und Dr. Plotz, Paris, gewählt. Der erst
Kongreß wird voraussichtlich im Oktober 1928 in Paris stattfinden. I
Deutschland hat sich zur Vorbereitung der weiteren Arbeiten ein Landes
ausschuß unter Vorsitz von Prof. Hahn, Berlin, gebildet. Anfragen ode
Zustimmungserklärungen sind zu richten an den Schriftführer Prof. Gilde
meister, Berlin-Lichterfelde W, Viktoriastraße 7.

Ausstellung für Gewerbehygiene.

Als Unterabteilung der Niederländischen Gewerbe
Ausstellung, welche vom 1. Juni bis zum 15. September 1928 i
Rotterdam (Holland) gehalten wird, wird auch eine Abteilung für Ge
werbehygiene, Betriebssicherheit, Berufskrankheiten und Psychotechni
eingerichtet. Eine Halle, 60 zu 120 m, ist hierfür zur Verfügung gestell
worden. Für diese Sonderabteilung hat sich eine Kommission gebildet, be
stehend aus den Herren: Dr. N. M. Josephus Jitta, Vorsitzender des Ge
sundheitsrates, als erster Vorsitzender; C. J. Ph. Zaalberg, General-Arbeits
Direktor, zweiter Vorsitzender; Diplom-Ing. R. A. Gorter, Direktor de
Museums für Arbeitsschutz, Gewerbe-Unfälle usw.; Dr. W. R. M. Kraner
burg, ärztlicher Beistand des Zentraldienstes der Arbeitsinspektion; Pro
Dr. J. G. Sleeswijk, Prof. für Gewerbehygiene an der Technischen Hoch
schule in Delft; Dr. A. H. Vossenaar, Chef-Grubenarzt in Heerlen; Dr. J
Sanders, Arzt; F. W. Drijver, Prokurist der Bank-Associatic in Rotterdam

Diese Abteilung gliedert sich in eine wissenschaftliche und eine Handels
abteilung. In letzterer wird, soweit der Raum es gestattet, denjenigen, di
Artikel in den Handel bringen, welche für eine der obengenannten Gruppe
von Interesse sind, Gelegenheit gegeben werden, in dieser Sonderabteilun
auszustellen. Firmen, welche meinen, hierfür in Betracht zu kommen
können sich jetzt schon wenden an den ersten Sekretär Dr. J. Sanders
Heemraadssingel 240, Rotterdam.

Bakteriophagen.

Untersuchungen an Kolibakterien der Kuh.

Von

Dr. **Georg Majer.**

Aus dem bakteriologischen Institut der preuß. Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft zu Kiel.

(Bei der Redaktion eingegangen am 17. Mai 1927.)

Die Natur des d'Herelleschen Bakteriophagen ist trotz eifrigster Forschungen noch immer strittig:

Die hauptsächlichsten einander widersprechenden Anschauungen sind:

1. D'Herelle: Der Bakteriophage ist ein lebendes ultravisibles Virus.
2. Bail: Der Bakteriophage stellt Splitter der aufgelösten Bakterien dar.
3. Bordet und Ciuca: Der Bakteriophage ist ein Ferment, das von lebenden Körperzellen ausgeschieden wird.
4. Kabéshima: Der Bakteriophage ist ein Ferment, das katalytisch Autolyse der Bakterien hervorruft.

Auf Grund spezieller Untersuchungen, mehren sich jedoch besonders im vergangenen Jahr die Forscher, welche die Ansicht d'Herelles von der belebten Natur des Bakteriophagen bestätigen zu müssen glauben.

Obgleich diese wichtigste Frage nach der Natur des Bakteriophagen noch nicht endgültig entschieden ist, kennt man doch schon eine Reihe grundlegender und konstanter Eigenschaften des Bakteriophagen. Man weiß heute auf Grund verschiedener Untersuchungsmethoden, daß der Bakteriophage ein kleines, mit dem gewöhnlichen Mikroskop nicht sichtbares Scheibchen von 20—30 $\mu\mu$ darstellt, das Bakterienfilter passieren kann und sich nur bei Gegenwart von sich vermehrenden spezifischen Bakterien zu vermehren vermag. Ferner hat sich ergeben, daß es mehrere Arten von Bakteriophagen gibt, daß sie auf verschiedene Bakterienstämme wirken können, daß sie Anpassungsvermögen besitzen, daß eine Temperatur unter [illegible]5° im allgemeinen nicht tödlich wirkt und daß sie ähnlich der Maximalkeimzahl der Bakterien einen konstanten Maximaltiter zeigen.

Während die Mehrzahl der früheren Arbeiten mehr vom medizinischen Standpunkte aus zu betrachten sind, beschäftigt sich vorliegende Arbeit nur mit rein bakteriologischen Erscheinungen der Bakteriophagie und behandelt wichtige technisch bakteriologische Fragen.

Bei dem ungemein großen Umfang der heute schon über dieses Phänomen bestehenden Literatur ist es unmöglich, hier einen geschichtlichen Überblick über einzelne grundlegende Arbeiten zu geben, der in anderen

Werken, z. B. von Otto, Munter und Winkler (2), bereits nieder gelegt ist. Dagegen werden vor den einzelnen Kapiteln die für die betreffen den Abhandlungen jeweils wichtigen Arbeiten Erwähnung finden.

I. Vorversuche.

1. Züchtung von Bakteriophagen aus Kot nach d'Herelle.

Um möglichst rasch Bakteriophagen zu erhalten und eine deutliche Wirkung beobachten zu können, wählte ich als erstes Untersuchungsobjek den Kot eines Kalbes, das seit vier Wochen an Durchfall litt. Der Ko wurde möglichst frisch in einer sterilen Petrischale gesammelt und dann nach der von d'Herelle u. a. beschriebenen Methode zur Ge winnung von Bakteriophagen weiter behandelt. Ungefähr 50 ccm der Kot probe wurden mit ebensoviel Bouillon digeriert und 1—2 Tage bei 37° ge halten. Hernach wurde nach gründlichem Durchmischen zuerst durch Papier und dann durch eine Berkefeldkerze filtriert. Gleichzeitig war abe der frische Kot auch sofort auf seinen Bakteriengehalt untersucht worden Eine Isolierung aus der Gesamtflora ergab, daß auf der Agarplatte über di Hälfte sämtlicher Kolonien das typische Bild der Kolikolonien zeigte. Di genauere Untersuchung bestätigte diesen Befund und zeigte, daß die ein zelnen Kolonien alle einem Stamm angehörten. Es lag daher die Ver mutung nahe, daß die Darmerkrankung des Kalbes auf diesen Parasiten zurückzuführen war, und daß dementsprechend für diesen Stamm auch Bakteriophagen vorhanden sein konnten.

Da der Bakteriophage selbst nur bei gleichzeitigem Wachstum von spezifischen Bakterien sich vermehren kann, brachte ich zu 10 ccm de obigen Filtrates 100 ccm Bouillon und impfte mit dem isolierten Koli stamm. Nach 48 stündigem Wachstum bei 37° filtrierte ich wieder durch eine Berkefeldkerze. Ich impfte zu diesem Zweck zwei Bouillonagarröhrchen mit je einer Öse einer 24 stündigen Kolibouillonkultur, mischte aber zu den einen Röhrchen 1 ccm des Filtrates, in dem das Bakteriophage angereicher sein mußte, und goß damit Platten. Nach eintägigem Aufbewahren bei 37 war auf der einen Platte ein dichtes Wachstum von Kolikolonien, auf de anderen, die 1 ccm des Filtrates enthielt, auch mit der Lupe keine Koloni zu erkennen, auch keine Löcher im Agarrasen. Die Platte selbst war gleich mäßig trübe. Auch 2—3 Tage hernach zeigte diese Platte noch dasselb sterile Aussehen und erst nach 4—5 Tagen zeigten sich einzelne winzig Kolonien, die aber nur langsam heranwuchsen.

Neben dieser Methode des Vermischens des Bakteriophagen wurd auch noch das von d'Herelle und anderen beschriebene Auftropfver fahren zum Nachweis der Bakteriophagen angewandt. Ich goß wieder mi einer Öse einer 24 stündigen Kultur eine dichte Agarplatte. Nachdem ic die Platte einige Stunden hatte abtrocknen lassen, wurden an der Unter seite 4 Punkte bezeichnet und auf diese Stellen je ein Tropfen des bakterio phagenhaltigen Filtrates gegossen. Nach 24 Stunden zeigte diese Platte ei dichtes Kolonienwachstum mit Ausnahme der vier Stellen, wo die Bakterio phagenflüssigkeit aufgetropft war; diese Stellen waren völlig keimfrei.

Um speziell die lytische Eigenschaft des evtl. vorhandenen Bakteriophagen festzustellen, impfte ich zwei Bouillonröhrchen wieder mit einer kleinen Öse der Kolibouillonkultur, gab in das eine 5 Tropfen des obigen Filtrates und beobachtete nun bei 37° alle Stunden das Trübewerden der beiden Röhrchen. Trotz mehrmaliger Wiederholung des Versuches konnte jedoch kein deutlicher Unterschied in der Trübung geschweige Aufhellung beobachtet werden. Der Kolistamm war also wahrscheinlich, wie unten näher ausgeführt wird, ein sogenannter lysoresistenter Stamm, der seine lytische Empfindlichkeit eingebüßt hatte.

Mit diesen eben beschriebenen Versuchen war wohl eine bakterizide Wirkung gezeigt, aber nicht bewiesen worden, daß tatsächlich Bakteriophagenwirkung vorlag. Um dies zu beweisen, mußte geprüft werden, ob sich der vorliegende Bakteriophage vermehren lasse, was sich darin äußert, daß er hernach in einer solchen Verdünnung bakterizid wirkt, bei welcher andere solche Stoffe durch die zu starke Verdünnung nicht mehr keimtötend oder wachstumhemmend zu wirken vermögen. Dies wurde ausgeführt, indem ich das zweite Röhrchen vom Aufhellungsversuch, das 5 Tropfen des Filtrates enthielt eine halbe Stunde auf 56° erhitzte, wieder mit Koli impfte und nach 24 Stunden wieder filtrierte. Von diesem Filtrat wurde ein halber ccm zu 10 ccm Bouillon gebracht, und nochmals der spezifische Kolistamm darin wachsen gelassen. Das Filtrat hiervon ergab im Auftropfverfahren wieder genau so wie das erstemal keimfreie Stellen, wo der Bakteriophage aufgetropft worden war. Somit konnte mit Sicherheit behauptet werden, daß die beschriebene keimtötende Wirkung auf Bakteriophagen zurückzuführen war, da die Stoffwechselprodukte und die bakterizid wirkenden Darmsäfte in so großer Verdünnung vorhanden waren, daß sie nicht mehr im Stande gewesen wären, Keime abzutöten.

Als weiteres Untersuchungsmaterial diente der Kot einer gesunden Kuh. Hierbei wurde nach dem Galleanreicherungsverfahren 2 verschiedene Kolistämme aus dem frischen Kot isoliert, ohne Berücksichtigung der übrigen Flora. Die Züchtung von Bakteriophagen wurde wieder nach dem oben beschriebenen Verfahren durchgeführt. Bei genauer Prüfung ergab sich, daß auch bei der gesunden Kuh einer der beiden Kolistämme auf den Bakteriophagen reagierte. Der Nachweis war auch hier nur mit dem Plattenverfahren möglich, da auch dieser Stamm schon seine lytische Empfindlichkeit verloren hatte.

Um einen kleinen Überblick über die ungefähre Verteilung der Kolibakterien im Kot und die damit zusammenhängende Verdünnung der Bakteriophagen zu erhalten, mischte ich den Kot von drei Kühen und goß aus der gesamten unveränderten Bakterienflora Agarplatten. Von den erhaltenen Einzelkolonien bestimmte ich dann die hauptsächlichsten Bakterienarten, eine Arbeit, die in qualitativer Hinsicht schon von anderer Seite von Stahl (3) und anderen ausgeführt worden war. In quantitativer Hinsicht ergab sich, daß der größte Prozentsatz der vorhandenen lebenden Bakterien aus Sporenbildnern besteht, und hernach erst in viel geringerer Anzahl die übrigen Bakterienarten folgen. Kolibakterien waren nur mit ungefähr 1—2% vertreten und es war daher auch eine dementsprechend große Verdünnung der Bakteriophagen zu vermuten. Von den

Platten konnten dann einerseits noch zwei weitere verschiedene Kolistämme isoliert werden, und andererseits durch gleichzeitiges Verarbeiten von größeren Mengen des gemiscten Kotes ein bakteriophagenhaltiges Filtrat gewonnen werden. Von den beiden isolierten Kolistämmen war auch nur wieder einer gegen das Filtrat empfindlich.

2. Versuche, durch Einwirkung von Duodenalsaft auf bakteriophagenfreie Bakterien Bakteriophagen zu gewinnen.

Neben der von d'Herelle beschriebenen und empfohlenen Methode der Bakteriophagengewinnung aus Kot haben spätere Forscher bei Untersuchungen, welche die Natur des Bakteriophagen klären sollten, auch noch andere Wege einzuschlagen versucht. Borchardt (4) beschreibt z. B. ausführliche Versuche über die Gewinnung von Bakteriophagen durch Einwirkung von Duodenalsaft auf Bakterien und gelangte auf Grund seiner Untersuchungen zu der Ansicht, daß das aktivierte Trypsin des Duodenalsaftes das Entstehen der Bakteriophagen bewirken könne. Diese Ansicht wurde aber wiederlegt durch die Untersuchungen von Wolff (7), Keller (8) und Hoder und Kiyoshi Suzuki (19), welche behaupten, daß die Bakteriophagen als Parasiten im Darm ständig zu leben vermögen, also bei den Versuchen von Borchardt höchstwahrscheinlich als solche schon vorher vorhanden waren und nicht erst bei der Einwirkung des Trypsin auf die Bakterien entstanden seien, daß aber allerdings das Trypsin wohl imstande ist, das Wachstum und die Einwirkung des Bakteriophagen zu begünstigen.

Hätte sich die Ansicht Borchardts bestätigt, so wäre dies einerseits ein sehr starker Beweis für die Fermentnatur des Bakteriophagen gewesen, andererseits hätte es ein sehr wichtiges und bequemes Verfahren abgegeben für jede Bakterienart, Bakteriophagen zu züchten. Diese Frage machte auch ich zum Gegenstand meiner Untersuchungen, aber mehr aus dem Grunde, um festzustellen, in wieweit die Verwendung von Duodenalsaft das Züchten von Bakteriophagen erleichtert.

Zu diesem Zweck wurde mehrmals der Zwölffingerdarm einer frisch geschlachteten Kuh unter möglichst aseptischen Bedingungen von Kot gereinigt und die Innenseite abgeschabt. Das hierdurch erhaltene trübe Sekret wurde mittels Natronlauge schwach alkalisch gemacht, mit doppelten Teilen steriler Bouillon gemischt und auf 10 Erlemeyerkolben verteilt. Fünf dieser Kolben wurden dreimal eine halbe Stunde auf 58° erhitzt, um die vorhandene Bakterienflora, speziell Fäulnisbakterien, nach Möglichkeit abzutöten; die anderen fünf Kolben wurden in rohem Zustande verwendet. In je einen erhitzten und einen nicht erhitzten Kolben wurden 6 Ösen einer 24 stündigen Bouillonkultur verschiedener Bakterienarten eingeimpft, und zwar Bact. prodigiosum, Streptoc. lactis und drei Kolistämme. Die Bakterienstämme waren natürlich vorher genau auf Bakteriophagenfreiheit untersucht worden.

Nach 36 stündigem Aufenthalt bei 37° bzw. für Milchsäurebakterien und Bact. prodigiosum bei 30° wurde filtriert und das Filtrat nach der oben beschriebenen Tropfmethode auf Bakteriophagenwirkung untersucht. Da

bei ergab sich, daß in beiden Kolben für Bact. prodigiosum und zwei Kolistämmen Bakteriophagen im Filtrat vorhanden waren, dagegen nicht für den dritten Kolistamm und den Milchsäurebakterienstamm. Wenn nun nach Ansicht Borchardts die Bakteriophagen durch Einwirkung des aktivierten Trypsins entstehen sollen, so ist nicht einzusehen, warum gerade nur für bestimmte Bakterienstämme auf diese Weise Bakteriophagen entstehen sollten; ich mußte mich daher der Ansicht der oben zitierten Autoren anschließen, daß die Bakteriophagen bei diesen Versuchen als solche schon vorher im Duodenalsaft vorhanden waren.

3. Versuche über Entstehung von Bakteriophagen im lebenden Organismus.

Ähnlich den Anschauungen Borchardts glaubten andere Forscher, wie Bordet und Ciuca (5), daß eine eigentliche Neuentstehung von Bakteriophagen möglich, diese aber an den lebenden Organismus gebunden sei. Auch dieser Versuch wurde wiederholt, indem ich in Abständen von zwei Tagen einem Meerschweinchen 2 ccm einer Koliaufschwemmung intraperitoneal einspritzte. Das 8 Tage nach der ersten Einspritzung entnommene Exsudat ergab jedoch keine Bakteriophagenwirkung, so daß ich auch hier der Ansicht anderer Forscher z. B. Gertrud Meißner (6) zustimmen mußte, daß der Bakteriophage, ebenso wie im Duodenalsaft auch in der Bauchhöhle des Meerschweinchens vorhanden sein kann.

4. Züchtung von Bakteriophagen aus Jauche.

Da die Bakteriophagen, wie unten näher ausgeführt wird, nicht nur auf einen Stamm zu wirken vermögen und daher spezifische Bakteriophagen nicht immer im Medium des Zuchtstammes gesucht zu werden brauchen, war zum Auffinden von Bakteriophagen dasjenige Material am geeignetsten, das aus möglichst vielen Kotarten verschiedener Tiere bestand. Meines Erachtens mußte ein solches Material für meine aus der Kuh gezüchteten Kolistämme in der Jauche vorliegen. Um nun den Wert der Stalljauche als Fundmaterial für Bakteriophagen praktisch festzustellen, wurde nach vorherigem Umrühren aus einer großen Jauchegrube ungefähr 200 ccm entnommen, in einem Erlenmeyerkolben eine halbe Stunde auf 56° erhitzt und dann mit 10 ccm Bouillon gemischt. Nach genügender Abkühlung impfte ich von den Bouillonkulturen von 6 verschiedenen bakteriophagenfreien Kolistämmen je ungefähr 5 Tropfen in das Gemisch und ließ die Kulturen bei 37° wachsen. Nach 48 Stunden wurde filtriert und nach den oben beschriebenen Methoden auf Bakteriophagen untersucht. Nach genügender Anreicherung durch mehrere Passagen zeigte sich, daß ein lytischer Bakteriophage und drei andere vorhanden waren. Die Stalljauche kann somit als sehr geeignetes Material zur Auffindung von Bakteriophagen bezeichnet werden.

5. Versuche für Hefen, Bakteriophagen zu züchten.

Da die genaue Beobachtung der Bakteriophagenwirkung in der Zelle selbst infolge der Kleinheit der Bakterien immerhin ziemlich schwer ist, wäre es sehr von Vorteil, wenn man an größeren Organismen, wie z. B. der

Hefe, diesen Vorgang verfolgen könnte. Da in der Literatur nirgends etwas von positiven Ergebnissen in dieser Hinsicht berichtet ist, versuchte ich nach denselben Methoden, die bei Bakterien von Erfolg begleitet waren, auch für Hefen Bakteriophagen zu züchten. Es wurden hierzu mehrere Kotproben mit Würze und zur Neutralisation der Säure mit etwas Kreide vermischt. Nach halbtägigem Stehen wurde durch Papierfilter filtriert, das Filtrat mit einer reichlichen Menge Bäckereihefe geimpft und das ganze 48 Stunden bei 30⁰ aufbewahrt. Darauf wurde durch ein Ultrafilter filtriert und das Filtrat auf die Anwesenheit von Bakteriophagen für Hefe in der üblichen Weise untersucht. Dabei zeigte sich aber nur bei Anwendung einer sehr großen Konzentration des Filtrates anfänglich eine schwache Wachstumshinderung in Würze und zum Teil auch auf Platten, welche aber nicht auf Bakteriophagenwirkung zurückgeführt werden konnte. Auch unter dem Mikroskop zeigten die Hefen, selbst wenn sie direkt mit dem Filtrat aufgeschwemmt wurden, keinerlei Veränderungen. Das Resultat blieb auch dasselbe, als ich unter Zusatz des Filtrates durch längeres Stehenlassen Autolyse der Hefen hervorrief.

Wie oben erwähnt, ist Duodenalsaft nicht nur ein sehr günstiges Ausgangsmaterial zur Züchtung von Bakteriophagen, sondern es erfolgt durch ihn auch eine erhöhte Wirkungsmöglichkeit der Bakteriophagen. Um vielleicht durch diese Wirkung zu Hefebakteriophagen zu gelangen, impfte ich drei verschiedene Hefearten (eine Kahmhefe, eine Weinhefe und eine Bierhefe) in zweimal auf 56⁰ erhitztem Duodenalsaft, der mit gleichen Teilen Würze und etwas Kreide versetzt war. Nach 48 Stunden wurde wieder filtriert und das Filtrat nach denselben bekannten Methoden untersucht; das Ergebnis war auch hier negativ.

Zur Erweiterung dieser Versuche wurde ca. 14 Tage ein Meerschweinchen mit Hefe, die zur Neutralisation der Magensäure mit Kreide gemischt war, gefüttert und hernach der Kot sowohl auf Hefen, wie auf Hefebakteriophagen untersucht. Im Kot waren zum Teil neben toten Hefen sogar einzelne lebende Hefen vorhanden, dagegen ließen sich darauf keine Bakteriophagen gewinnen. Auf Grund dieser Ergebnisse muß ich annehmen, daß es entweder keine Bakteriophagen für Hefen gibt oder daß sie sich mit den gewöhnlichen Züchtungsmethoden nicht anreichern lassen.

II. Eigene Fragestellungen.

1. Gleichzeitig vorhandene Koli-Bakterien und Koli-Bakteriophagen.

Während in den oben beschriebenen Versuchungen verschiedene Züchtungsmethoden erprobt und Bakteriophagen aus verschiedenem Material isoliert wurden, schien es mir von Wert zu sein, das gleichzeitige Vorhandensein von Bakterien und entsprechenden Bakteriophagen in Kuhkot festzustellen. Ein Überblick über das quantitative Verhältnis von Kolibakterien und Bakteriophagen ermöglicht nämlich wiederum Schlüsse zu ziehen über die ev. physiologische Bedeutung der Bakteriophagen bei den Verdauungsvorgängen. Obgleich Zusammenhänge zwischen der Verdauung und der Bakteriophagenwirkung heute noch in keiner Weise sicher

ıachgewiesen sind, deutet doch das regelmäßige Vorkommen der Bakterio-
›hagen in fast allen Arten von Kot auf ein Mitwirken bei der Verdauung ıin. Leider ist es aber nicht möglich, gerade dies genau zu kontrollieren, la erstens diese Vorgänge an den lebenden Organismus gebunden sind und .weitens alle die einzelnen Darmsäfte sich nicht isolieren lassen. Man kann edoch annehmen, daß die Bakteriophagen nicht nur ein Überwuchern der 3akterien verhindern, sondern daß sie auch in gewissen Darmabschnitten lie Bakterien, die doch einen großen Prozentsatz der Nährstoffe verbrauchen, vieder zur Auflösung bringen und damit dem Körper eine bessere Aus-ıützung der Nährstoffe ermöglichen. Der Eiweißabbau des Bakterien-iweißes geht sogar, wie die Untersuchungen von I k o m a (9) besagen, sehr veit, da die durch Bakteriophagen aufgelösten Bakterien keine Agglu-ination mit dem natürlichen Bakterieneiweiß mehr zeigen.

Um nun diesen Überblick über die quantitativen Verhältnisse zu ge-vinnen, wurde der Kot von 12 weiteren Kühen diesbezüglich untersucht.)abei wurde der Kot wie bei den früheren Untersuchungen möglichst frisch n sterilen Petrischalen gesammelt. Ein Teil jeder Kotprobe wurde alsbald nit Milchsäure schwach angesäuert, mit gleichen Mengen steriler Bouillon emischt und bei 45⁰ aufbewahrt. Nach etwa 30stündigem Aufbewahren vurde von jeder Probe nach gründlichem Mischen 10—20 ccm durch Papier ltriert. Mittels einer Pipette brachte ich nun von jedem Filtrat 2 ccm so in in steriles Reagenzglas, daß die Wandung oben nicht benetzt wurde. In ie Flüssigkeit wurden sterile 0,5 cm breite und 15 cm lange Filtrierpapier-treifen hineingehängt. Nachdem die Flüssigkeit etwa 16 Stunden in den 'apierstreifen hatte aufsteigen können, schnitt ich unter sterilen Verhält-issen die oberste eben noch feuchte Schicht in der Breite eines halben cm b und schüttelte das Papierstückchen in 10 ccm Bouillon. Von der Bouillon vurden nun Milchzuckeragarplatten gegossen, die fast nur Kolibakterien eigten. Durch das Ansäuren war ein Überwuchern der Sporenbildner, urch die verhältnismäßig hohe Temperatur das Wachstum der meisten lilchsäurebakterien und durch das Hochkletternlassen die unbeweglichen 3akterien ausgeschaltet worden. Die zahlreichen hierdurch erhaltenen Colistämme wurden nun nach üblichen Methoden genau untersucht.

Gleichzeitig mit dieser Isolierung der Kolistämme wurden die einzelnen Cotproben auf das Vorhandensein von Bakteriophagen untersucht. Zuerst vurde jede Probe mit der doppelten Menge Bouillon von der p_H 8,0 gemischt nd bei 37⁰ einem üppigem Wachstum überlassen. Nach 48 Stunden wurde on jeder Probe ungefähr 20 ccm durch Papier filtriert und eine halbe Stunde uf 60⁰ erhitzt, um wenigstens einen Teil der Bakterien abzutöten. Ein Fil-rieren durch ein Ultrafilter, wodurch die Flüssigkeit alllerdings steril ge-vorden wäre, wurde nicht vorgenommen, weil die Gefahr einer damit ver-undenen starken Bakteriophagenadsorption immerhin sehr nahe lag. Nach-em die einzelnen trüben Filtrate entsprechend abgekühlt waren, impfte h von den inzwischen isolierten Kolistämmen die jeweils aus demselben Cot stammenden zu den Kotfiltraten und gab, um ein kräftiges Wachstum u ermöglichen, nochmals gleiche Mengen Bouillon dazu. Nach 24stündigem Vachstum bei 37⁰ erhitzte ich wieder eine halbe Stunde und ließ nach aber-ıaligem Impfen nochmals 24 Stunden wachsen und filtrierte nun jede

Probe durch ein Ultrafilter. Entsprechend der Anzahl der in jeder Kotprobe gefundenen Kolistämme entnahm ich nun je 1 ccm des zugehörigen Filtrates und mischte mit 9 ccm Bouillon, die mit dem betreffenden Kolistamm geimpft war. Gleichzeitig stellte ich für jedes dieser Bouillonröhrchen ein Kontrollröhrchen her, das nur dieselbe Menge Kolibakterien enthielt, um eine ev. Aufhellung an Hand dieses Vergleichsröhrchens sicher festzustellen. Waren Kolibakteriophagen in dem Kot vorhanden, so wurden diejenigen, die auf die isolierten Keime spezifisch wirkten, durch das wiederholte Impfen und Wachsen der spezifischen Bakterien beträchtlich angereichert oder die Virulenz gesteigert. Die Ausbeute an verschiedenen Kolistämmen und lytischen Bakteriophagenstämmen war jedoch gering, was auf verschiedene Weise erklärt werden kann: entweder waren alle gegen den Bakteriophagen lytisch empfindlichen Bakterien in den einzelnen Kotproben zum größten Teil durch den Bakteriophagen aufgelöst worden und daher bei der Isolierung der Beobachtung entgangen, oder aber waren sie als sogenannte lysoresistente Stämme gegen die aufhellende Wirkung des Bakteriophagen unempfindlich geworden.

Ein direkter Zusammenhang mit der Verdauungstätigkeit konnte also nach dieser Methode auf Grund der spärlich gefundenen Bakteriophagenstämme nicht nachgewiesen werden. Die vorliegenden Ergebnisse beweisen jedoch auch nicht, daß eine Mitwirkung der Bakteriophagen ausgeschlossen ist; es konnten wohl reichlich lytische Bakteriophagen vorhanden sein, aber keine Kolikeime, die gegen sie empfindlich waren und mit Hilfe derer die Bakteriophagen hätten angereichert und nachgewiesen werden können.

Es darf heute als eine erwiesene Tatsache angesehen werden, daß die Bakteriophagen genau so wie die einzelnen Bakterienarten in verschiedenen Stämmen vorkommen und deutlich unterschieden werden können durch ihre verschiedene Wirkung auf die einzelnen Bakterienstämme. Für eine weitere Untersuchung der Bakteriophagen war es nun von Wichtigkeit, möglichst verschiedene und scharf differenzierte Kolistämme für die folgenden Versuche zu verwenden. Es wurden daher von den isolierten Kolistämmen neun ausgewählt, die sich in ihren physiologischen Eigenschaften deutlich unterschieden. Von den gefundenen Eigenschaften sollen hier jedoch nur die Erwähnung finden, die auch Stutzer (17) für die Einteilung der Kolistämme angegeben hat. Sämtliche ausgewählten Stämme sind grammnegativ und bilden aus Dextrose und Laktose Gas und Säure. Die übrigen Eigenschaften und die Unterschiedsmerkmale können aus folgender Tabelle ersehen werden.

Nach dieser ausführlichen Beschreibung der isolierten Kolistämme sollen nun die zugehörigen isolierten Bakteriophagenstämme hier nur kurz erwähnt werden, dagegen in einem späteren Kapitel ausführlich behandelt werden. Von den neun ausgesuchten Stämmen war für Stamm 94 ein lytischer Bakteriophage, für Stamm 97 ein Bakteriophagenstamm, der nur noch auf die morphologischen Eigenschaften des Bakteriums einzuwirken vermochte, gefunden worden. Die übrigen Bakterienstämme waren alle mehr oder weniger lytisch resistent gegen den isolierten Bakteriophagen, aber immerhin als solche noch soweit empfindlich, daß sie mit ihren physio-

logischen Eigenschaften auf den Bakteriophagen reagierten und ihn auch noch in geringer Menge mit sich führten und vermehrten.

Kolistamm	Bewegung	Indol	Dextrose	Laktose	Mannit	Milch	Gelatine	Nach Stutzer
43	—	+	+ +	+ +	+ +	+	—	Paracoli I
47	+		+ +	+ +	+ ∓	+	—	Paraooli II
83	+	—	+ +	+ +	— —	+	—	Coli lacertae
92	+	+	+ +	+ +	+ +	+	—	—
92a	—	+	+ +	+ +	+ ∓	+ ∓	—	Paracoli C.
94	+	+	+ +	+ +	+ +	+	—	C. comm. Escherich
95	—	+	+ +	+ +	+ +	+ +	—	lactis aerogeness
97	+	—	+ +	+ +	+ ±	+ —	+	Coli Cloacae
98	+	+ +	± ±	+ +	+ +	+	—	Paracoli III. ähnlich

Stamm 97 peptonisiert nach 2 Tagen Milch.
Nach 8 Tagen Lakmusmilch blau.

2. Neue Filtrationsmethoden.

Vor diesen Ausführungen soll jedoch noch einiges erwähnt werden über eigene, neue Filtrationsmethoden. Die bisher bekannten Methoden der Ultrafiltration, die von einer Reihe von Forschern z. B. Meyeringh (11) mit immer weiteren Arten ergänzt wurden, auf die ich hier aber nicht eingehen kann, beruhen in der Hauptsache auf der Benutzung von Berkefeld- oder Chamberlandkerzen oder aber Membranfilter und ähnliches mehr. Alle diese Methoden haben aber den Fehler, daß sie für das praktische Arbeiten mit kleineren Flüssigkeitsmengen, wie es eben das Arbeiten mit Bakteriophagen meist bedingt, nicht zu gebrauchen sind. Dieser Nachteil der Kerzen ist auch von anderer Seite schon erkannt worden, und es ist zu dessen Behebung empfohlen worden, mittels einer Pipette die Flüssigkeit immer wieder hochzusaugen und über die Spitze der Kerze zu träufeln. Wie sich denken läßt, erfordert dies ein ständiges Mitarbeiten und eine genaue Beobachtung der Filtration. Es mußte daher eine Methode ausgearbeitet werden, die es ermöglicht, sowohl sehr kleine, als auch größere Mengen steril und rasch zu filtrieren. Dies wurde von mir dadurch erreicht, daß statt

der bisherigen Apparate geeignete Filtertiegel verwandt wurden. Sehr brauchbar erwiesen sich hierfür die ,,Halderwangerschen Filtertiegel". Die äußere Wandung dieser Tiegel ist glasiert, die Innenwandung und der Boden bestehen aus porösem Ton. Die Porenweite ist bei den einzelnen Tiegelsorten genau bestimmt und gearbeitet. Die engste Porenweite beträgt 0,3 μ und ist somit auch für sehr kleine Bakterien völlig undurchlässig. Der Tiegel selbst wurde mittels eines Gummiringes auf einen extra hierfür angefertigten Saugapparat gesetzt. Dieser bestand nur aus einer Art dickem Reagenzrohr, das seitwärts ein mit Watte verschließbares Ansatzrohr besaß. Der fertige Filtrationsapparat war infolge seiner Kleinheit leicht zu sterilisieren und ebensoleicht konnte durch einfaches Abnehmen des Tiegels und entsprechendes Abflammen das Filtrat steril entnommen werden. Da natürlich wie bei den Kerzen ein Verstopfen der Poren unausbleiblich war, war ein jedesmaliges Reinigen des Tiegels erforderlich. Dies geschah sehr einfach durch gründliches Trocknen und hernachfolgendes vorsichtiges Glühen in einem Schutztiegel. Von großem Vorteil erwies es sich nach dem ersten Glühen, den Tiegel mit einer konzentrierten Lösung von Ammonnitrat zu behandeln und dann nach erfolgtem guten Trocknen nochmals zu glühen. Durch das Ammonnitrat wurden auch die kleinsten Kohleteilchen in den Poren, die infolge Sauerstoffmangels schwer verbrannten, leicht zu CO_2 oxydiert. Bei vorsichtiger Ausführung dieser Reinigung waren die Tiegel unbeschränkt brauchbar. Die Benutzung von Filtertiegeln ergab somit eine Methode der Ultrafiltration, die sich für das Arbeiten mit kleinen Flüssigkeitsmengen allen anderen Methoden als überlegen erwies.

3. Arten der gefundenen Bakteriophagen.

a) Bakteriophagen, die nur in physiologischer Hinsicht auf Bakterien wirken, und nicht aufhellen.

Nach dem Auffinden der Bakteriophagen durch d'Herelle beschäftigte man sich lange Zeit nur mit der Erforschung der Art der Lyse, bzw. mit dem Studium der Natur des Bakteriophagen. Bei den genauen Untersuchungen der durch die Lyse entstandenen sogenannten resistenten Bakterienstämme wurde die Beobachtung gemacht, daß die Wirkung der Bakteriophagen auf die Bakterien je nach der Zeit der Einwirkung und Konzentration eine verschiedene sein kann. So schreibt z. B. Preiß (12), ,,daß das Wesen des Phänomens nicht nur in der Auflösung besteht, und daß die sogenannte Lyse nur eine der bakteriophagischen Erscheinungen darstellt, und daß in den Bereich der Bakteriophagie viele Erscheinungen gehören, die mit einer Auflösung nichts zu tun haben, wo man von Lysinen zu sprechen nicht berechtigt ist, die aber nichtsdestoweniger dieselbe Ursache haben müssen, wie die bakteriophage Auflösung". Eine ähnliche Ansicht vertrat Hoder (13), indem er schreibt, daß man bei dem Resistentwerden von Bakterien gegen Bakteriophagen verschieden feste Formen erhalten kann, je nach der Einwirkungsdauer und Intensität der Bakteriophagen. — ,,Die Veränderung der Keime äußert sich nicht nur in der verschiedenen Empfindlichkeit gegen den Bakteriophagen, sondern es kann auch eine radikale Änderung der biologischen Eigenschaften erfolgen; wahrscheinlich handelt es sich um ein Manifestwerden von primär

angelegten Eigenschaften“. Da die durch Bakteriophagen hervorgerufenen Eigenschaften der Bakterien erblich sind, hat man die Bakteriophagenwirkung in engen Zusammenhang gebracht mit den Mutationserscheinungen der Bakterien, für deren Ursache man bisher nur in seltenen Fällen eine befriedigende und sichere Begründung geben konnte. In zahlreichen Arbeiten wurde darauf hingewiesen, daß diese Veränderungen durch den Wechsel der Kulturmedien z. B. vom Tierkörper in Ackererde zu erklären sei. Da die neu erworbenen Eigenschaften sich oft nicht wieder durch eine solche Änderung zurückverwandeln ließen, hatte man in diesen Fällen hierfür keine sichere Erklärung. Interessant ist ferner die Beobachtung von Ogata (14), der feststellen konnte, daß diese Veränderungen der biologischen Eigenschaften nicht nur nach vorhergegangener Lyse in Erscheinung treten, sondern auch bei lysoresistenten Bakterien. Er schreibt: lysoresistente Flexnerstämme, die einige Zeit unter dem Einfluß eines Bakteriophagen gestanden hatten, verhielten sich in ihren fermentativen Eigenschaften gegenüber bestimmten Zuckerarten anders, als die Ausgangsstämme, während ihr Verhalten gegen andere Zucker unverändert blieb. . . . Eine Konstanz insofern, daß jeder Bakteriophage jeden Stamm in gleicher Weise beeinflußte, war nicht festzustellen. Andere Forscher stellten wieder den serologischen Unterschied solcher veränderter Bakterien fest. Bail (15) sucht diese Veränderungen der Bakterien alle durch seine Splittertheorie zu erklären, daß nämlich durch den Bakteriophagen aus der Bakterienzelle Splitter nach Art der Chromosomen der höher organisierten Wesen herausgerissen werden, und dadurch die Veränderungen zu erklären seien.

Die in folgendem beschriebenen Versuche bezweckten eine systematische Untersuchung der Einwirkung der Bakteriophagen auf natürlich lysoresistente Kolistämme, wie sie in ziemlicher Anzahl aus den Kotproben isoliert worden waren. Die dazu verwandten Kolistämme wurden zuvor durch mehrere Passagen durch saure Agarnährböden von anhaftenden Bakteriophagen befreit und dann in Bouillon weiter gezüchtet. Obgleich die Bouillonkulturen dieser lysoresistenten Stämme durch den Bakteriodhagen keine Aufhellung mehr erfuhren, war bei den meisten Stämmen, wie schon in den Vorversuchen erwähnt, wenigstens eine abtötende oder wachstumshemmende Wirkung auf Platten zu beobachten. Dabei war allerdings im Vergleich zu den lytischen Versuchen eine sehr hohe Kontration des Filtrates nötig, wobei aber nicht gesagt ist, daß auch eine dementsprechende Konzentration des Bakteriophagen vorlag, da mit den lysoresistenten Stämmen ja der Titer dieser Bakteriophagenflüssigkeit gar nicht festgestellt werden konnte, wie es bei den lytischen Bakteriophagen nach der von Werthemann (16) angegebenen Methode sonst ausgeführt wurde.

In folgendem sollen nun zuerst die Veränderungen der Kolonien durch die Bakteriophagenwirkung auf lysoresistente Bakterien beschrieben werden. Das abnorme Verhalten der Kolonien ließ sich zum Teil schon auf der Agarplatte mit unbewaffnetem Auge erkennen. Die häufigste und auffallendeste Veränderung der Einzelkolonien bestand darin, daß die Kolonien reihenweise regelmäßig nach einer bestimmten Zeit ein glasiges transparentes

Aussehen erhielten. Ein Abimpfen von solchen Kolonien ergab, daß entweder alle oder die Mehrzahl der Keime bereits tot waren. Ein solches reihenweises Transparentwerden ist wiedergegeben auf den photographische Bildern (Anhang 1 und 2). Um eine ev. Verwechslung mit Kolonien auszuschalten, die durch Austrocknen vielleicht ein ähnliches Aussehen erhalten konnten, wurden die betreffenden Agarplatten in feuchten Kammern gehalten. Außerdem wurden Kontrollplatten mit von Bakteriophagen befreiten Bakterien angelegt, welche diese Erscheinung selbst nach 4 Wochen nicht zeigten. Nach ungefähr 5 Wochen zeigten allerdings zwei der untersuchten Stämme auch diese Erscheinungen, was eben damit erklärt werden muß, daß die Stämme eben nicht ganz bakteriophagenfrei waren oder aber nach den Angaben von Gildemeister (17), Flu (18) und anderen solche bakteriophagenkranke Stämme vorlagen, die sich nie völlig reinigen lassen oder aus sich selbst wieder Bakteriophagenerscheinungen produzieren können. Dagegen zeigten alle Stämme, wenn man sie auf Milchzuckeragarplatten wachsen ließ, selbst nach 10 Wochen keine Andeutung eines Transparentwerdens. Auch diese Tatsache beweist, daß diese Erscheinungen auf Bakteriophagen zurückzuführen war, wie unten näher ausgeführt werden wird, die Bakteriophagen bei sauerer Reaktion des Mediums nicht zu wirken vermögen, die aus dem Milchzucker gebildete Säure auf diesen Platten die Wirkung der Bakteriophagen verhinderte.

Um nun diese Erscheinung des Transparentwerdens der Kolonien genauer beobachten zu können, stellte ich Mikrokolonien her. Dabei verstrich ich eine Öse flüssigen Bouillonagars auf ein Deckgläschen und impfte in die Mitte sehr vorsichtig nur durch leichtes Auftupfen möglichst wenig Kolikleime auf. Die Nadel mit den daran haftenden Bakterien hatte ich das eine Mal in das betreffende Bakteriophagenfiltrat getaucht, um die Bakterien mit Bakteriophagen zu infizieren, das andere Mal hatte ich als Kontrolle die Bakterien direkt auf den Agar gebracht. Die Deckgläschen brachte ich auf hohle Objektträger und verschloß mit Vaseline, so daß ein Austrocknen ausgeschlossen war. Die Mikrokolonien wurden bei 37° gezüchtet und ihr Verhalten mehrmals täglich beobachtet. Infolge der dünnen Agarschicht war die Kolonie selbst sehr dünn und die einzelnen Bakterien lagen alle nebeneinander in einer Ebene, was eine genaue Beobachtung sehr erleichterte. Dabei konnte folgendes festgestellt werden: Daß im allgemeinen das Wachstum der Kolonien in den ersten 48 Stunden keine besondere Abweichungen von normalem Kolonienwachstum zeigen (Photographie Nr. 3). Nach dieser Zeit, bei manchen Stämmen erst nach vier und sechs Tagen wurden die Kolonien glasig und durchsichtig. Die mikroskopische Untersuchung ergab, daß der früher scharfe Rand der Bakterien ganz verschwommen war, und daß wie durch Schleim alle Bakterien zusammenklebten (Photographie Nr. 4). Die weitere Beobachtung zeigte, daß die Verschleimung immer mehr zunahm, so daß die Bakterien, die bei Beginn dieser Erscheinung an den kleinen Erhebungen noch deutlich zu erkennen waren, immer mehr von Schleim umlagert wurden, so daß die Kolonie nach einiger Zeit nur noch das Bild eines Schleimgerinnsels mit feiner Körnelung bot (Photographie Nr. 5). Nach einiger Zeit verschwand auch diese Körnelung, und nach ein paar weiteren Tagen war die Kolonie infolge

des geringen Kontrastes des Schleimes und des Agargels beim Einstellen mit dem Mikroskop kaum mehr auffindbar oder zum mindesten nicht mehr als Bakterienkolonie zu erkennen. Bei zwei Stämmen blieben statt des Schleims nur noch einzelne kleine Körnchen als erkennbarer Rest zurück (Photographie Nr. 6). Obgleich diese Erscheinungen bei den bakteriophagenfreien Kontrollkolonien nicht, und bei einigen Stämmen erst nach 4 Wochen zu beobachten waren, könnte man auf Grund dieser Beschreibung den Einwand erheben, daß diese Erscheinungen bei jeder normalen bakteriophagenfreien Bakterienkolonie infolge der größeren Anhäufung von Stoffwechselprodukten oder als Alterserscheinungen auftreten können. Dagegen sprechen aber neben der bereits oben erwähnten Tatsache, daß diese Erscheinungen auf saurem Nährboden ausbleiben, auch die zu kurze und genaue Zeit mit der diese Erscheinungen auftreten.

Eine weitere Art der Bakteriophagenwirkung auf resistente Bakterien liegt auf biologischem Gebiete, und besteht in einer mehr oder weniger starken Änderung von Grundeigenschaften. Bei vorliegenden Versuchen wurde diese Veränderungsmöglichkeit auch nur wieder auf die wichtigsten Eigenschaften der Kolibakterien nach der Angabe von Stutzer ausgedehnt. Ich stellte also aus den mehrmals in Bouillon weitergezüchteten Stämmen wieder zwei Bouillonkulturen her mit ungefähr 10 ccm und gab zu dem einen Röhrchen 1 ccm der Bakteriophagenflüssigkeit. Nach 3tägigem Wachstum bei 37⁰ untersuchte ich dann die physiologischen Eigenschaften von je 2 Röhrchen. Die Untersuchungen zeigten, daß die grammnegative Eigenschaft, die Gasbildung und Säure von Dextrose, Laktose und Mannose qualitativ durch die Bakteriophagen keine Veränderung erlitten hatten. Dagegen zeigten deutliche Abweichungen der Grad der Milchdicklegung und die Indolbildung. In die Untersuchungen war zu Vergleichszwecken der lytisch empfindliche Stamm auch mit herein genommen worden. Bei Milch wurde der Versuch folgendermaßen durchgeführt, daß für neun Kolistämme für je einen Stamm zwei Röhrchen mit genau 10 ccm Magermilch geimpft wurden und zwar eines mit bakteriophagenfreien, das andere mit bakteriophagenhaltigen Bakterien. Außerdem fügte ich in das eine Röhrchen meist noch eine Öse lebender Bakteriophagen, in das andere eine Öse derselben bei 120⁰ abgetöteten Bakteriophagen. Die dabei erhaltenen Ergebnisse sind in folgender Tabelle wiedergegeben:

Röhrchen a ohne, Röhrchen b mit Bakteriophagen.

	Nach 24 Stunden		Nach 48 Stunden	
	a	b	a	b
Stamm 43	unverändert	Kasein dickgelegt	Kasein dickgelegt	Kasein dickgelegt
Stamm 47	unverändert	Kasein dick	Kasein schw. dick	Kasein dick
Stamm 83	unverändert	Kasein dick	Kasein dick	Kasein dick
Stamm 92	unverändert	Kasein dick	Kasein dick	Kasein dick
Stamm 92a	Kasein grieselig dick	Kasein grieselig dick	Kasein dick	Kasein dick

	Nach 24 Stunden		Nach 48 Stunden	
	a	b	a	b
Stamm 94	Kasein schw. dick gelegt	Kasein schw. dickgelegt	Kasein dick	Kasein dick
Stamm 95	unverändert	Kasein grieselig dick	Kasein schw. dick	Kasein grieselig dick
Stamm 97	beginnende Dicklegung	beginnende Dicklegung	Milch dick	Kasein grieselig dick
Stamm 98	Milch dick	Milch dick	Milch dick	Kasein grieselig dick

Entsprechend der verschieden raschen Milchdicklegung wurde von denselben Röhrchen jeweils nach 5 Tagen die gebildete Säure titrimetrisch bestimmt. Die unten angegebenen Zahlen entsprechen der Anzahl ccm $^1/_{10}$ normal KOH, die zur Neutralisation der in 10 ccm Milch gebildeten Säure erforderlich waren.

a ohne, b mit Bakteriophagen.

	a	b		a	b
Stamm 43	6,0	7,3	Stamm 94	6,0	6,0
„ 47	5.8	6,2	„ 95	5,3	6,3
„ 83	5,6	6,1	„ 97	2,0	2,0
„ 92	6,0	5,1	„ 98	5,8	5,9
„ 92a	5,8	5,8			

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß die Wirkung der Bakteriophagen keine einseitige war, d. h. nicht immer einen h ö h e r e n Säuregrad bedingte, wie z. B. Stamm 92 zeigt. Der lytisch empfindliche Stamm 94 hatte durch den Bakteriophagen keinerlei Änderungen im Säurungsvermögen erlitten. Bei diesen verschieden starken Säurungsvermögen war nun nicht das betreffende Bakterium, sondern der Bakteriophage bestimmend. Wie unten noch näher ausgeführt werden wird, wirkt der lytische Bakteriophagenstamm nicht nur auf den Zuchtstamm 94, sondern auch auf die Stämme 47, 83 und 92. Brachte man nun anstatt des oben angewandten Bakteriophagen zu den Stämmen 47, 83 und 92 den lytischen Bakteriophagenstamm von 94, so bleibt bei allen drei Stämmen das Säurungsvermögen gleich, also bei Stamm 47 = 5,8 ccm, bei Stamm 83 = 5,6 ccm und bei Stamm 92 6,0 ccm. —

Bei der Einwirkung auf die Indolbildung ergaben sich keine so hervorspringenden Unterschiede wie oben, indem ein indolpositives Bakterium nicht ganz sein Indolbildungsvermögen verlor, sondern nur eine Abschwächung oder Verstärkung erfuhr.

Nach 24stündigem Wachstum in Trypsinbouillon.

Stamm	43	47	83	92	92a	94	95	97	98
Ohne Bh.	+	±	+	±	∓	+	—	∓	∓
Mit Bh.	+	—	+	±	+	+	±	+	+

b) Bakteriophagen, die in morphologischer Hinsicht wirken.

Nach der Beschreibung dieser verhältnismäßig häufigen Erscheinungen der Bakteriophagie soll nun ein seltenerer Fall besonders Beachtung finden. Wie oben beschrieben, haben sich beim Stamm 97 die physiologischen Eigenschaften durch die Einwirkung der Bakteriophagen wenig geändert. Um so deutlicher und auffallender waren aber die morphologischen Veränderungen, welche diese Bakterien durch die Einwirkung der Bakteriophagen erfuhren. Die Untersuchungsmethode war dieselbe, wie für die übrigen lysoresistenten Stämme mittels der Mikrokolonien auf Agar. Die Kolonien wuchsen bei 37° sehr rasch heran und zeigten gewöhnlich die ersten 4—5 Stunden ganz normales Aussehen (Photographie 7 und 8). Zum Unterschied von den anderen resistenten Stämmen traten bei diesem Stamm stets schon nach 5 Stunden diese annormalen Veränderungen auf. Vereinzelt konnte man auch schon nach ca. drei Stunden ein plötzliches Auflösen eines Teils der Kolonie beobachten, so daß nur noch ein dunklerer Rand als Zeichen dieses Vorgangs zurückblieb (Photographie Nr. 9). Gewöhnlich begannen die einzelnen Bakterien nach 5 Stunden sich rasch zu vergrößern und hatten im Verlauf von 1—2 Stunden sich um das Zwei- bis Dreifache, oft noch um das Mehrfache vergrößert. Einzelne Bakterien hatten sogar statt der fädigen Form Kugelgestalt angenommen, die an Masse aber mindestens auch 3 bis 4mal so groß waren wie normale Kolibakterien. Gleichzeitig war auch hier eine deutliche Verschleimung eingetreten, und die Bakterien selbst völlig undurchsichtig geworden. Einzelne Kolibakterien, speziell die am Rande der Kolonie oder die außerhalb liegenden konnten sich — wahrscheinlich durch die starke Schleimbildung — sogar fortbewegen und krochen langsam am Rande der Kolonie entlang oder andere direkt frei über die Agarfläche (Photographie Nr. 10 und 11). Nach 8—9 Stunden war dann stärkere Schleimbildung und darauf folgend die Auflösung der Bakterien vor sich gegangen. Von der Kolonie selbst waren meist nur noch kleine Körnchen und wenig Schleimgerinnsel übrig geblieben (Photographie Nr. 6). Auch diesen Veränderungen mußten meines Erachtens in Übereinstimmung mit Manninger (20), der eine ähnliche Erscheinung vor mir veröffentlicht hat, auf Bakteriophagenwirkung zurückgeführt werden. Diese Erscheinungen stehen sogar in Anbetracht der kurzen Zeit und der rascheren und völligen Auflösung den Wirkungen der lytischen Bakteriophagen näher, als die oben beschriebenen.

Die vorliegenden Untersuchungen über die Bakteriophagenwirkung bei lysoresistenten Bakterien hatten somit ergeben, daß

1. unter den aus Kuhkot isolierten natürlich vorkommenden Kolistämmen der größte Teil aus sogenannten lysoresistenten Stämmen besteht, die also das eigentliche d'Herellesche Phänomen der Aufhellung nicht zeigen.

2. Daß diese Bakterien, trotz der verlorenen lytischen Empfindlichkeit doch noch durch den Bakteriophagen, sowohl in morphologischer, wie physiologischer Hinsicht beeinflußt werden können.

c) Lytische Bakteriophagen.

Nachdem in früheren Kapiteln die häufigeren aber weniger auffallenden Wirkungen der Bakteriophagen beschrieben wurden, soll jetzt das seltenere

aber besonders als typisch bekannte Bakteriophagenphänomen näher beleuchtet werden.

Der Vorgang der Lyse vollzog sich bei meinem Kolistamm 94 folgendermaßen: Ich stellte zuerst nach der von A p p e l m a n n angegebenen, und von W e r t h e m a n n (16) verbesserten Methode Dezimalverdünnungen des Bakteriophagen her, indem ich 1 ccm einer aufgehellten und hernach filtrierten Bouillonkultur zu 9 ccm steriler Bouillon gab, mischte und von dieser Mischung mittels frischer Pipette wieder 1 ccm zu 9 ccm Bouillon gab usw. den Bakteriophagen verdünnte. Zu jedem der einzelnen der Röhrchen gab ich eine gleich große Öse einer jungen Bouillonkultur von bakteriophagenfreien empfindlichen Bakterien; außerdem gab ich als Kontrolle noch eine Öse in ein Röhrchen mit steriler Bouillon. Stellte ich die ganze Reihe nun in den Brutschrank, so trübten sich in den ersten 2 Stunden, mit bloßem Auge betrachtet, alle Röhrchen gleich stark. Nach weiteren 15 bis 25 Minuten zeigte dann das erste Röhrchen, das 1 ccm Bakteriophagen enthielt, starke Aufhellung; nach weiteren 5 bis 10 Minuten das zweite und dritte, nach weiteren 5 Minuten das vierte und fünfte usw. bis zum achten Röhrchen, das allerdings nicht so stark aufgehellt wurde, wie die ersten. Der Bakteriophagengehalt war aber bei späterer Untersuchung genau derselbe, wie in den ersten Röhrchen, eine Tatsache, die M e u l i (21) schon ausführlich beschrieben hat, Der Bakteriophage hatte also mit dem Stamm 94 einen Titer von 10^{-8}.

Wie ich feststellen konnte, ist die Aufhellung bedeutend deutlicher, wenn man die Röhrchen nach der Impfung noch eine halbe bis eine ganze Stunde bei niederer oder Zimmertemperatur stehen läßt und erst dann in den Brutschrank bringt. Dies läßt sich meines Erachtens damit erklären, daß in dieser Zeit eine vollständigere Bindung zwischen Bakterien und Bakteriophagen stattfindet, bevor die Bakterien beginnen, sich rasch zu vermehren. Dies ist besonders wichtig für die Röhrchen mit höherer Verdünnung, weil hier bei der geringen Anzahl der Organismen nicht alle Bakterien sofort auf einen Bakteriophagen stoßen und sich so eine Zeit lang ungehemmt vermehren können.

Beobachtet man nun diesen Vorgang der Lyse unter dem Mikroskop, indem man von einzelnen Röhrchen Kulturen in hängenden Tröpfchen herstellt, so zeigen die Bakterien auch hier in der ersten Zeit keinerlei Abweichung weder in Bewegung noch Größe von der bakteriophagen Kultur. Nach zwei Stunden war die Bewegung noch dieselbe, dagegen hatte sich das Aussehen der Bakterien selbst geändert. Die Bakterien waren dichter und undeutlicher und erinnerten an das Aussehen von Milchsäurebakterien. Nach einiger Zeit verlangsamte sich die Bewegung stark und es kam zu Ausbildung von Schleimhöfen unter gleichzeitiger Quellung und dadurch bedingter Vergrößerung der Bakterien. Allmählich trat eine Aufhellung des Zellinhaltes wieder ein, doch waren an Stelle der beiden angedeuteten Polkörperchen und der Vakuole in der Mitte in der fast doppelt so großen Zelle einzelne (ca. 5 bis 7) winzig kleine, aber sehr scharf umrissene, tiefschwarze Pünktchen oder Körnchen unregelmäßig verteilt. Zwischen diesen Körnchen waren eine annähernd gleich große Anzahl sehr heller Vakuolen aufgetreten. Die Zellwand war zwar noch an Stellen vollständig zu sehen,

ber sehr schwach und verschwommen. Bei weiterer Beobachtung verchwamm der Rand der einzelnen Bakterien immer mehr bis zur Unkenntichkeit, während in der Mitte die dunklen Körnchen noch sehr gut zu sehen varen, wenn auch in verminderter Anzahl. Die Zellauflösung führte bei hrem Fortschreiten zu einem Verlust des Zusammenhanges der Körnchen nd Vakuolen, so daß nach Verlauf einer weiteren halben Stunde von den inzelnen Bakterien nur noch vereinzelt ein oder zwei Körnchen zu finden varen. Die Zellauflösung war somit vollendet.

α) Verhalten auf Agar.

Außer dem Grad der Aufhellung und dem konstanten Titer gibt es für ie Unterscheidung der einzelnen Bakteriophagenstämme noch andere harakteristische Merkmale. Eines derselben ist das Verhalten der Bakteriohagen auf Agar. Man unterscheidet hierbei vor allem lochbildende und ichtlochbildende. Die Lochbildung wird damit erklärt, daß kleine Koloien durch den Bakteriophagen völlig wieder aufgelöst werden. Der vouregende Bakteriophage war ein nichtlochbildender, tötete aber trotzdem uf der Agarplatte bei entsprechender Konzentration die Keime völlig ab, uch Gildemeistersche Flatterkolonien waren leicht zu erhalten, enn ich unter die Agarplatte nur wenig Bakteriophagen mischte und auf ie abgetrocknete Platte entweder mit dem Drigalskyspatel Bakterien ufstrich oder einzelne Kolonien aufimpfte.

β) Verhalten bei Temperaturschwankungen.

Bei diesen Untersuchungen handelte es sich erstens darum, festzuellen, die Lage von Temperaturoptimum, Minimum und Maximum der Virksamkeit, zweitens die Abtötungstemperatur. Während dies bei den akterien leicht an Hand der Keimzählung durchzuführen ist, mußte hier er Titer und der Grad der Lyse als Maßstab und Vergleichswert verwendet erden. Bei den Untersuchungen wurde so vorgegangen, daß eine filtrierte, ıfgehellte Kultur immer gleichzeitig, sowie stets dieselbe Bouillon für alle ersuche verwandt wurden. Dadurch konnte festgestellt werden, daß das emperaturoptimum zwischen 30° und 37° liegen mußte. Ließ ich die akterienauflösung bei einer niederen Temperatur vor sich gehen, so trat B. bei Zimmertemperatur auch die Aufhellung von acht Röhrchen ein, doch nach viel längerer Zeit. Wurde bei noch niederer Temperatur geıchtet, so war die Bakteriophagenreaktion immer mehr verzögert. Bis ı ca. 15° blieb die Anzahl der aufgehellten Röhrchen dieselbe, dagegen war er Grad der Aufhellung in den einzelnen Röhrchen bedeutend geringer. ie letzte Aufhellung, die noch bei ziemlich starker Konzentration des Bakriophagen bemerkt werden konnte, war bei 9 bis 10°.

Auf dieselbe Weise bestimmte ich auch das Temperaturmaximum, obei ebenso mit der Steigerung der Temperatur der Grad der Aufhellung sch abnahm. Bei 45° war nur noch ein ganz minimaler Unterschied zwihen den bakteriophagenfreien und bakteriophagenhaltigen Kulturen zu emerken.

Um die Abtötungstemperatur des vorliegenden Bakteriophagen zu beimmen, wurden von einem ebenfalls nur filtrierten Bakteriophagen gleiche

Mengen in sterile Röhrchen gebracht. Von diesen wurden dann je zwei hängend eine halbe Stunde in ein Wasserbad von bestimmter und konstant gehaltener Temperatur gebracht. Hernach wurden zugleich mit dem Vergleichsröhrchen mit nicht erhitzten Bakteriophagen gleiche Verdünnungsreihen angelegt. Dadurch konnte ich feststellen, daß bis zu Temperaturen von 62 bis 63° keinerlei Abschwächung in der lytischen Kraft der vorliegenden Bakteriophagen erfolgt war. Bei 65° wurden bereits nur noch 5 Röhrchen gegenüber acht der Vergleichsreihe aufgehellt. Bei 67° zeigte nur noch das erste Röhrchen eine ganz schwache Aufhellung; bei 70° war dann jede Spur einer Aufhellung verschwunden. Diese Ergebnisse der Temperaturempfindlichkeit stimmen mit den Angaben früherer Forscher, d'Herelle und andere (22) über andere Bakteriophagenstämme aus dem Menschenkot annähernd überein.

γ) Wirkung bei verschiedener Reaktion des Nährmediums.

Entsprechend den Temperaturverhältnissen besitzen die Bakteriophagen auch ein Optimum, Maximum und Minimum der Wasserstoffionenkonzentration. Otto und Winkler (23) stellten fest, daß die Bakteriophagen auch hierin verschieden sind, daß er aber im allgemeinen bei einer P_H von 7,65 das Optimum und in sauren Medien bei P_H 6,5 die unterste Grenze der Wirkungsmöglichkeit liegt. Um diese wichtigen Grenzpunkte von dem vorliegenden Bakteriophagen zu bestimmen, wurden zuerst Bouillonröhrchen mit verschiedener nach Michaëlis bestimmter P_H hergestellt. Dann bestimmte ich wieder, wie oben nach Zeit und Grad der Lyse und der Bakteriophagenkonzentration die einzelnen Punkte. Für das P_H Optimum konnte ich als Mittelwert in Bouillon 7,6 aufstellen. In alkalischer Bouillon war bei P_H 8,2 bereits eine starke Abschwächung und bei P_H 8,4 nur noch eine geringe Aufhellung zu bemerken. In schwachsaurer Bouillon zeigte sich bei P_H 6,8 bereits eine Abschwächung und Verzögerung der Lyse; bei P_H 6,6 wurden nur vier Röhrchen aufgehellt anstatt acht. Bei P_H 6,4 zeigten die bakteriophagenfreien Röhrchen keine stärkere Trübung mehr an. Auch die Abtötungsgrenzwerte die nach Eliava und Pozerski (24) bei P_H 2,5 und 8,4 liegen, stimmten mit diesen Angaben annähernd überein.

δ) Wirkungsbreite der Bakteriophagen.

Eine auffallende und charakteristische Eigenschaft der Bakteriophagen ist die Eigenart der einzelnen Stämme, nicht nur auf den Wirtsorganismus, den eigentlichen Zuchtstamm, lytisch zu wirken, sondern auch auf andere, aber ganz bestimmte Bakterienstämme, zum Teil sogar andere Bakterienarten, zu wirken. Diese von d'Herelle schon erwähnte Polyvalenz der Bakteriophagen wurde fast bei allen nachgewiesen. Hoder (25) berichtet darüber ausführlich an Hand von 17 Stämmen. Da die Anzahl der auf einen Bakteriophagenstamm empfindlichen Bakterienstämme nicht sehr groß, aber konstant ist, kann diese Polyvalenz eines Bakteriophagenstammes als charakteristisches Merkmal eines Stammes gelten und mit zur Unterscheidung von anderen Stämmen dienen. Diese Uniformität, wie

oder diese Eigenschaft nennt, lag auch bei meinem Stamme vor. Es ›fanden sich innerhalb der kleinen Auswahl der neun Kolistämme drei eitere (Nr. 47, 83, 92), die durch den Bakteriophagen aufgehellt wurden. ie Aufhellung in Bouillon war bei der ersten Passage bei allen diesen drei ;ämmen nur schwach. Bei weiteren Passagen in Bouillon verstärkte sie :h jedoch rasch, so daß nach 5 Passagen der Bakteriophage auf diese drei ;ämme im allgemeinen genau so stark lytisch wirkte, wie auf den Ausgangs-amm 94. Es hatte somit eine Art Anpassung des ursprünglichen Bakterio-ıagen an diese Bakterienstämme stattgefunden. Ließ ich nun diese ange-ıßten Bakteriophagen wieder auf Stamm 94 wirken, so war dort seine tische Kraft etwas geschwächt, aber nach einer Passage bereits wieder auf ›r alten Stärke.

Untersuchung von käuflichen Bakteriophagen-präparaten als Beitrag zur Uniformität.

Um diese interessanten Untersuchungen, über die Uniformität der ıkteriophagen, die bei einer praktischen Verwendung derselben in der edizin und Technik von größter Bedeutung ist, weiter zu führen, unter-chte ich mehrfach Präparate, die heute von der „Deutschen Bakterio-ıagengesellschaft" in Berlin hergestellt werden. Die Untersuchung erstreckte :h wieder auf meine neun aus Kuhkot isolierten Kolistämme und wurden ırchgeführt mit Bakteriophagenpräparaten gegen Typhus- und Koli-ıkterien. Dabei wurde noch nach Art des oben beschriebenen Auftropf-rfahrens auf ziemlich dicht geimpfte Agarplatten von den neun Koli-ämmen, abgeflammte Tabletten der Präparate aufgelegt, um so eine ab-tende Wirkung zu beobachten. Ferner wurden mehrere Tabletten der ·äparate in Bouillon aufgeschwemmt und nach dem Zerfall die über-ehende Flüssigkeit durch ein Ultrafilter filtriert. Das Filtrat wurde dann bekannter Weise auf eine aufhellende Wirkung untersucht. Dabei zeigte :h, daß schon bei der ersten Passage drei Stämme schwach aufgehellt ırden, zu denen sich bei weiteren Passagen noch zwei dazugesellten. Die ıiformität war somit nicht vollständig, aber immerhin als gut zu bezeichnen.

Die Reinigung der Bakterien von anhaftenden Bakteriophagen.

Isoliert man aus irgendwelchem Material Bakterien, so können aus den ltraten der Nährlösungen ähnlich, wie aus Stuhlauszügen Bakteriophagen ·wonnen werden. Die Bakteriophagen haften an den empfindlichen Bak-·rien, und zwar wird angenommen (Gertrud Meißner 6), daß die ıkteriophagen mit einer Art thermoresistenter Rezeptoren aneinander rankert sind. Trotz dieser festen Bindung vermögen die Bakteriophagen doch nur bei gleichzeitiger Vermehrung der Bakterien und erst bei einer stimmten eigenen Konzentration auf diese lösend zu wirken. Bringt man so in ein System von lysosensiblen Bakterien und wenig Bakteriophagen ıen hindernden Faktor, z. B. Züchtung bei bestimmter niederer oder ·her Temperatur oder bestimmten Mengen von Giften (Säuren usw.), so ·rden wohl Bakterien und Bakteriophagen nicht abgetötet, es tritt aber ch keinerlei Erscheinung zutage, die auf das Vorhandensein von Bakterio-

phagen zurückzuführen wäre. Damit ist es wohl auch zu erklären, daß so verschiedene Meinungen entstanden sind über die Entstehung der Bakteriophagen. Otto und Munter (26) erwähnten als erste die Entstehung des Bakteriophagenlysins in alten Kulturen. Diese Versuche wurden dann von Ogata (27) und anderen wiederholt und endigten mit demselben Resultat. Trotzdem muß auf Grund späterer genauer Untersuchungen angenommen werden, daß der Bakteriophage latent von Anfang vorhanden gewesen war, jedoch nie seine typische Wirkung gezeigt hat, weil man ihm nie Gelegenheit geboten hatte, sich entsprechend anzureichern.

Aus diesen Überlegungen ergibt sich ohne weiteres, daß für ein exaktes Arbeiten mit Bakteriophagen unbedingt erforderlich ist, daß man die Bakterienstämme vor der Verwendung zu solchen Untersuchungen genau prüft, ob ihnen Bakteriophagen anhaften, und im gegebenen Fall diese Kulturen einem dementsprechenden Reinigungsverfahren unterzieht. Während die Ultrafiltration ein sehr bequemes Mittel darstellt, Bakteriophagen von Bakterien zu trennen, ist umgekehrt die Trennung der Bakterien von den Bakteriophagen häufig sehr schwer und gelingt in manchen Fällen überhaupt nicht, wie die Versuche von Flu (18) zeigen. Bei einigen Shigastämmen war es ihm durch sieben Passagen durch Agar, bei anderen durch Wachstum unter 10^0 gelungen, diese Trennung durchzuführen. Bei einem Cholerastamm war es ihm aber auf keine Weise, auch nicht nach der 50. Passage geglückt, den Stamm bakteriophagenfrei zu bekommen.

Wie auch in meinen früheren Ausführungen oben erwähnt wurde, besitzen die Bakteriophagen eine beträchtliche Widerstandsfähigkeit gegen Säure und Alkali, können aber ihre charakteristischen Wirkungen nur in einem eng umgrenzten Gebiet der Wasserstoffionenkonzentration entfalten. In Erwägung dieser Tatsache stellte nun Scheidegger (28) folgenden Versuch an: er stellte zwei Dezimalverdünnungsreihen des Bakteriophagen mit verschiedener P_H, nämlich 7,2 und 4,84 her. Während in dem ersten Röhrchen volle Lyse eintrat, verlief im zweiten das Wachstum so, als ob überhaupt keine Bakteriophagen vorhanden wären. Die weitere Untersuchung ergab, daß sich die Bakteriophagen in den sauren Röhrchen auch nicht vermehrt hatten. Wurden daher von den letzten Röhrchen durch entsprechende Verdünnung Platten gegossen, so waren die meisten dieser Keime bakteriophagenfrei. Andere Forscher, z. B. Prausnitz und Edith Firle (29), empfahlen zur Reinigung die Verwendung von Tetralin und Chininsalzen, da der Bakteriophage gegen diese Salze empfindlicher sei wie die Bakterien. Da diese für Shigabakterien beschriebenen Reinigungsverfahren aber manchmal auch von zweifelhaftem Erfolg begleitet waren, lag mir daran, auch für Kolibakterien ein praktisches Reinigungsverfahren auszuarbeiten. Um die tatsächliche Bakteriophagenfreiheit der Kulturen zu beweisen, konnten nur solche Untersuchungen genügen, die auch den Nachweis geringster Mengen von Bakteriophagen ermöglichten. Die genaue Beschreibung der dabei angewandten Methode ist für eine genaue Beurteilung der folgenden Versuche unerläßlich. Die Prüfung wurde so vorgenommen, daß zweimal je 3 ccm der 24stündigen Kultur in zwei sterile Röhrchen gebracht und darin zur Abtötung der lebenden Keime eine halbe Stunde auf 60^0 erhitzt wurden. Ein Filtrieren der Kultur kam bei diesen

Jntersuchungen nicht in Frage, da bei Anwesenheit von sehr wenig Bakterio-
)hagen, diese von dem Ton der Filtertiegel hätten adsorbiert werden können. Zu den Röhrchen brachte ich 7 ccm sterile Bouillon, impfte und ließ 24 Stunden bei 37° wachsen und wiederholte so den ganzen Prozeß einigemal. Zum Schluß prüfte ich nach bekannten Methoden auf Anwesenheit von Bakteriophagen. Zur Ausführung dieser Versuche mischte ich in eine Bouillonkultur eines bakteriophagenfreien, aber sehr empfindlichen Stammes eine geringe Menge Bakteriophagen und versuchte nun, nach verschiedenen Methoden wieder völlig bakteriophagenfreie Kulturen zu erhalten. Ich goß nun Gelatineplatten, die bei ca. 0 bis 6° gehalten wurden. Nach dem ca. 3 bis 4 Wochen dauernden Wachstum war aber nach weiteren Isolierungen auf Gelatineplatten nur etwa $^2/_5$ der Kolonien bakteriophagenfrei. Ähnliche schlechte Ergebnisse zeitigten die Versuche mit Tetralin und Chininsalzen in flüssigen Kulturen, wobei oft die Bakterien sich sogar empfindlicher erweisen als die Bakteriophagen. Das einzige Verfahren, das für Kolistämme gute Resultate zeitigte, war das Säurungsverfahren. Man impfte die mit Bakteriophagen infizierten Bakterien in Bouillon von der P_H 5,4. Der P_H-Unterschied wurde so groß gewählt, damit nicht eine ev. Anpassung (s. u.) der Bakteriophagen erfolgen konnte, eine noch mehr saure Reaktion über ein zu langsames Wachstum der Koli bedingt hätte. Nach 24stündigem Wachstum goß ich Platten mit Milchzuckeragar, indem ich vorher in stark saurem Wasser die Kolikultur verdünnt und kräftig geschüttelt hatte. Die Kolikolonien, die infolge der aus dem Milchzucker sich bildenden Säure wieder in saurem Medium wuchsen, mußten also fast alle bakteriophagenfrei sein, was auch durch die weitere Untersuchung bestätigt werden konnte. Die saure Agar- oder die saure Gelatineplatte wurde gewählt, weil in saurem Agar und noch mehr in saurer Gelatine der Bakteriophage stärker gehemmt wird als in sauren flüssigen Kulturen, in denen die Entstehung von halbresistenten Formen eher möglich ist.

Da diese Methode der Reinigung der Bakterien von Bakteriophagen durch Säuerung rascher und vollständiger verlief, muß ich sie bei Kolibakterien für die geeignetste halten.

. Die Reduktion von Methylenblau in Gegenwart von Bakteriophagen.

Während tote Zellen und Fermente niemals Methylenblau und ähnliche Farbstoffe zu reduzieren vermögen, ist das Reduktionsvermögen eine charakteristische Eigenschaft der lebenden und sich vermehrenden Bakterien. Wie die Versuche von Goncony (30) und anderen zeigen, ist der Grad der Reduktion abhängig einerseits von der Virulenz der Bakterien, andererseits von dem Grad des Stoffwechsels und der Keimzahl. Untersuchungen über den Grad der Methylenblau Reduktion können somit einzelne Lebensvorgänge der Bakterien genau charakterisieren. Goncony und Soanyi (31) benutzten deshalb die Reduktion von Methylenblau, um die Einwirkung der Bakteriophagen auf Bact. Rattimors und andere klar zu legen. Die Untersuchungen ergaben die auffallende Tatsache, daß die Bakteriophagen in den ersten Stunden eine Steigerung des Reduktionsgrades bewirken. Diese Erscheinung wurde erklärt durch ein schnelleres Ver-

mehren der Bakterien und der damit verbundenen größeren Keimzahl Dasselbe Ergebnis zeitigte die etwas später erschienene Arbeit von K a u f f m a n n (32), jedoch mit der Ergänzung, daß ein proportionales Verhältni bestehe, zwischen der Konzentration der Bakteriophagen und der Bakterien In einer zuletzt erschienenen Arbeit von S h w a r t z m a n n (33) wurd die Reduktion von Methylenblau bei gleichzeitigem Verlauf des Bakterio phagenphänomens in 4 Phasen eingeteilt. 1. eine Phase der Depressio innerhalb der ersten 30 Minuten, unter der man ein Schwächen der redu zierenden Kraft zu verstehen hat. 2. eine Phase des Ansteigens der redu zierenden Kraft. 3. Eine Phase, die das Maximum der reduktionsfördernde Kraft darstellt und noch andauert, wenn die Lyse schon begonnen hat 4. Eine Phase des Fallens der reduzierenden Kraft. Die hiernach einge stellten Reduktionskurven, die nur mit 3 bzw. 5 Punkten fixiert sind, er möglichen jedoch nicht einen genauen Überblick zu gewinnen über de Unterschied in dem Grad der Reduktion.

Leider ist auch bei den früheren Autoren nichts erwähnt über die Ar der bei ihren Versuchen angewandten Keimzählung. Diese könnte hier ein sehr große Rolle spielen. Wie aus den Untersuchungen von K i m u r a (34 hervorgeht, findet alsbald nach dem Mischen der lysosensiblen Bakterie mit den Bakteriophagen eine sehr intensive Bindung zwischen beiden statt die auch durch Ausschütteln mit Wasser usw. nicht gelöst wird, dere Vorhandensein sich aber erst ein paar Stunden später äußert. Wird nu die Keimzählung nur nach dem Plattenverfahren ausgeführt, so können be der natürlich ungleichen Verteilung der Bakterien und Bakteriophagen trotz der geringen Konzentration mindestens einzelne Keime erst vie später als sogenannte resistente Kolonien auf der Platte erscheinen, wen sie unter Umständen nicht ganz unterdrückt werden.

Zur Ausführung vorliegender Versuche wurden aus einer 16stündige Kolikultur in Bouillon 2 größere Kolben mit frischer Bouillon mit gena gleicher Keimzahl hergestellt. Die Keimzahl wurde von mir neben der Plattenverfahren bestimmt nach einer Modifikation des in Amerika ge bräuchlichen Verfahrens von B r e e d , indem ich $^1/_{100}$ ccm einer bestimmte Verdünnung auf eine Fläche von 4 qcm ausstrich, trocknete, fixierte un nach Färbung mit Methylenblau nach L ö f f l e r die Keime direkt zählte

Sofort nach dem Mischen stellte ich in dem einen Kolben durch gan geringe Zugabe eines virulenten Bakteriophagen einen Titer von 10^{-5} her Zu bestimmten Zeiten wurde nun aus jedem der beiden Kolben, die bei 37 gehalten wurden, 10 ccm entnommen und mit einem halben ccm methylen blauer Lösung versetzt. Die methylenblaue Lösung wurde durch Löse einer Tablette Methylenblau „Merk" in 200 ccm Wasser hergestellt. Di reduzierende Kultur wurde sofort nach dem Mischen des Farbstoffes mittel Paraffinöl von Luftsauerstoff getrennt und dann zur Beobachtung de Reduktionszeit ebenfalls bei 37° gehalten. Im Gegensatz zu manche früheren Arbeiten wurde als Maßstab für den Grad der Reduktion nicht di jeweilige Reduktionsstufe bei verschiedenen Mischungsverhältnissen, son dern die absolute Zeit, in der eine Probe eben vollständig reduziert wa gewählt. Bedeutend klarer wird das Bild über den Unterschied in de Reduktionsfähigkeit der beiden Kulturen, wenn man statt Methylenbla

das von Christiansen (35) empfohlene Janusgrün verwendet. Dieser Farbstoff schlägt bei der Reduktion zuerst in rot und bei weiterer Reduktion in farblos um. Man hat also an verschiedenen Punkten nicht nur die Beobachtung der verschieden schnellen Reduktionen, sondern auch noch einige Zeit hernach verschiedene Farben des Indikators. Der Kürze und Übersicht halber sind die Ergebnisse in beiliegenden graphischen Darstellungen zusammengefaßt. In Tafel I, Seite 216 stellt die mit 1 bezeichnete Kurve die normale Reduktionskurve dar, entsprechend der normalen Bakterienvermehrung, wie sie in Tafel II in Kurve 1 verläuft. Kurve 2 (in Tafel I) zeigt den Verlauf der Reduktion bei Zusatz von Bakteriophagen bei den entsprechenden Keimzahlen, wie sie Kurve 2 in Tafel II zeigt. Man sieht durch die graphische Darstellung der Reduktionskurven deutlich, daß durch die Gegenwart von spezifischen Bakteriophagen der Grad der Reduktion von Methylenblau stark verändert wird, bzw. daß die Bakteriophagen ein bedeutendes Verstärken der Reduktion bewirken. In den Kurven der Tafel II ist das Verhältnis der Bakterienvermehrung und der jeweiligen Keimzahl in den beiden Kolben wieder gegeben. Die Kurven zeigen, wie bei den früheren Autoren erwähnt wurde, in den ersten zwei Stunden eine Steigerung der Vermehrung und beim Eintritt der Lyse ein sehr rasches Fallen der Keimzahl.

Bezugnehmend auf die Arbeit von Shwartzmann wurden vorliegende Versuchsergebnisse daraufhin geprüft, ob sich einzelne Phasen in der Reduktion bei Gegenwart von Bakteriophagen deutlich hervorheben. Ohne besondere Schwierigkeiten ließen sich auch hier 4 Phasen unterscheiden, die allerdings mit den oben erwähnten nicht identisch sind.

I. Eine Phase des Ansteigens der reduktionsfördernden Kraft, die zwei Stunden und zehn Minuten dauert, und im Punkte X das Maximum erreicht.

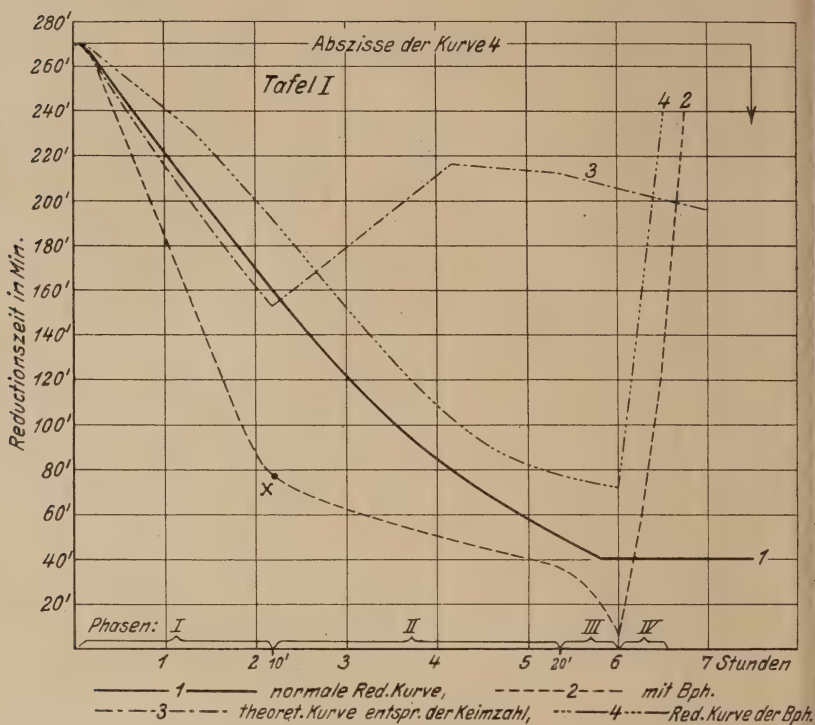
II. Eine Phase der langsamen Abnahme der reduktionsfördernden Kraft, die ca. drei Stunden und zehn Minuten dauert.

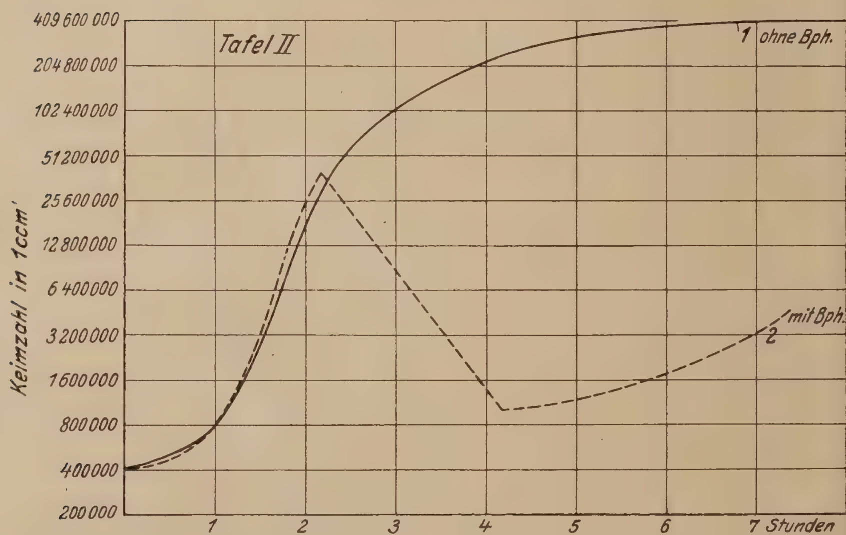
III. Eine Phase, die erneutes Ansteigen der reduktionsfördernden Kraft zeigt, die ein zweites Maximum nach insgesamt sechs Stunden zeigt.

IV. Eine Phase, die ein starkes Abfallen der Reduktionskraft unter die der Normalkurve darstellt.

Die oben erwähnte und beschriebene I. Phase der Depression fehlte bei vorliegenden Versuchen vollständig. Es läßt sich dies aber damit erklären, daß Shwartzmann seine Versuche wahrscheinlich mit geringer Keimzahl und verhältnismäßig hohem Titer der Bakteriophagen angestellt hat. Es findet dann dabei eine prozentuelle sofortige Absättigung, gleichsam Neutralisation der Bakterien statt, die damit aus dem weiteren Verlauf des Stoffwechsels und der Vermehrung ausgeschaltet sind. Da bei vorliegenden Versuchen die Keimzahl verhältnismäßig groß, der Bakteriophagentiter absichtlich klein gewählt worden war, so war auch nichts von einer anfänglichen Depression zu bemerken.

Um die Ursache der bedeutend verstärkten Reduktionsfähigkeit der bakteriophagenhaltigen Kultur klarzulegen, wurde außerdem der Versuch gemacht, festzustellen, ob die Bakteriophagen neben ihrem Reiz auf die Bakterienvermehrung auch selbst noch unabhängig von den Bakterien zu


Tafel I
Abszisse der Kurve 4
Reductionszeit in Min.
280'
260'
240'
220'
200'
180'
160'
140'
120'
100'
80'
60'
40'
20'
Phasen: I II III IV
1 2 10' 3 4 5 20' 6 7 Stunden
——1—— normale Red. Kurve, ----2--- mit Bph.
-·-3-·- theoret. Kurve entspr. der Keimzahl, ···—4···— Red. Kurve der Bph.


Tafel II
Keimzahl in 1 ccm
409 600 000
204 800 000
102 400 000
51 200 000
25 600 000
12 800 000
6 400 000
3 200 000
1 600 000
800 000
400 000
200 000
1 ohne Bph.
2 mit Bph.
1 2 3 4 5 6 7 Stunden

reduzieren vermöchten. Es wurde daher zu diesem Zweck in einem Zeitpunkt, indem die Kurve der bakteriophagenhaltigen Kultur am meisten von der normalen abweicht, und daher anzunehmen war, daß hier die Bakteriophagenwirkung am intensivsten und die Bakteriophagen selbst am virulentesten seien, nach 2 Stunden und 10 Minuten im Punkt X rasch 10 ccm entnommen, durch ein Ultrafilter filtriert und ein paar Minuten später, wie die übrigen Proben mit Methylenblau versetzt zur Beobachtung der Reduktionszeit bei 37° gehalten. Es war jedoch überhaupt keine Reduktion zu beobachten, so daß dadurch bewiesen ist, daß die Bakteriophagen unter diesen Bedingungen, getrennt von den Bakterien nicht selbst zu reduzieren vermögen, dagegen auf die Bakterien einen vermehrungsfördernden Reiz ausüben.

Vergleicht man die gleichzeitigen Werte der Kurven der Tafel I und II kritisch miteinander, so wird auffallen, daß das starke Abweichen der Reduktionskurve der bakteriophagenhaltigen Kultur von der normalen Reduktionskurve nicht im Einklang steht mit dem verhältnismäßig geringen Unterschied der Keimzahlen. Es müßte z. B. die Reduktionszeit beim oben erwähnten Punkt X eine viel höhere Keimzahl als die aus der Kurve ersichtliche entsprechen. Außerdem dauert die Steigerung der Reduktionskraft noch an, nachdem die Keimzahl durch die Lyse bereits weit unter die der Kontrollkultur gesunken ist. Es kann also die größere Reduktionsfähigkeit der bakteriophagenhaltigen Kultur nicht, wie die früheren Autoren behaupten, n u r durch die schnellere Vermehrung der Bakterien und die damit zusammenhängenden Erscheinungen erklärt werden, sondern die Bakteriophagen üben, neben ihrem vermehrungsfördernden Reiz außerdem noch einen sehr starken reduktionsfördernden Reiz auf die Bakterien aus, oder aber, was wahrscheinlicher ist, die Bakteriophagen reduzieren im Zusammenhang mit den Bakterien s e l b s t.

Diese Verhältnisse näher aufzuklären, dienen die beiden weiteren Kurven 3 und 4 in Tafel I. — Für die Kurve 2 in Tafel II läßt sich durch Substitution der nach Kurve 1 in Tafel I gefundenen Werte der Reduktionszeit eine weitere Kurve aufstellen für die Reduktionszeiten, wie sie den Keimzahlen einer bakteriophagenhaltigen Kultur entsprechen w ü r d e n. Diese Kurve ist dargestellt in Kurve 3 der Tafel I. Es tritt hier noch deutlicher der große Unterschied zutage zwischen der empirisch erhaltenen Kurve 2 und der theoretischen Reduktionskurve, die der jeweils tatsächlich vorhandenen Keimzahl entsprechen würde. Aus den Unterschieden in den einzelnen Punkten zwischen den Kurven 2 und 3 ergab sich Kurve 4. Diese muß also den Wert darstellen, welcher der reduktionsfördernden Kraft der Bakteriophagen oder wahrscheinlich der Reduktion der Bakteriophagen selbst, bei Gegenwart lysosensibler Bakterien entspricht.

Da die Bakteriophagen, wie die Versuche gezeigt haben, getrennt von den Bakterien selbst nicht reduzieren, läßt sich eine ev. Eigenreduktion nicht mit absoluter Sicherheit beweisen. — Eine Eigenreduktion liegt aber im Bereich der Wahrscheinlichkeit, da bis heute kein Enzym bekannt ist, das reduktionsfördernden Einfluß auf Bakterien ausüben oder selbst reduzieren könnte.

Auch die Untersuchungen von Dörr und Grüninger (36) über die Verhältnisse der Keimzahlen zu dem Lysintiter ergeben wichtige Anhaltspunkte für die Auffassung bzw. die Wahrscheinlichkeit, daß die Bakteriophagen selbst reduzieren. Es wurde dort gezeigt, daß im Moment der Lyse der Bakteriophagentiter einen mittleren Wert von 5 oder 6 darstellt, und daß die Vermehrung der Bakteriophagen nach dem Eintritt der Lyse noch weiter fortschreitet, obgleich die Keimzahl sehr stark herabgesetzt ist, und die resistenten Keime erst sehr langsam sich vermehren. Nach ca. 6 Stunden, wenn die für jeden Bakteriophagen charakteristische Maximalkonzentration erreicht ist, hört die Vermehrung sofort auf. Mit dieser Erscheinung ist ohne Zweifel das plötzliche Abfallen der reduktionsfördernden Kraft nach derselben Zeit zu erklären. Für die Auffassung, daß der Bakteriophage bei Gegenwart von lysosensiblen Bakterien Eigenreduktion besitzt, spricht der gesamte Verlauf der Kurve 4. Diese Kurve entspricht bis zu ihrem Knickpunkt bei 6 Stunden vollkommen der theoretisch zu erwartenden Reduktionskurve eines in Vermehrung befindlichen reduzierenden Organismus. Die Reduktionsfähigkeit, die in engem Zusammenhang mit der Vermehrungsfähigkeit steht, müßte also nach 6 Stunden sehr stark zurückgehen, wie es auch tatsächlich der Fall ist.

6. Anpassungsfähigkeit der Bakteriophagen.

Schon d'Herelle (22) hat in seiner ersten Abhandlung über die Natur des Bakteriophagen als Kriterium des Lebens auch die Anpassungsfähigkeit der Bakteriophagen erwähnt. Auch andere Forscher haben diese Tatsache zum Gegenstand ihrer Untersuchungen gemacht, zum Teil mit verschiedenem Ergebnis. Schuurmann (37) gelang es jedoch, einen Flexnerbakteriophagen so an eine saure Reaktion des Mediums zu gewöhnen, daß er bei P_H 6,0 noch wirkte. Ebenso gelang eine Gewöhnung der Flexnerbakteriophagen an die schädigende Wirkung des Chinisol. Ordelt (38) hat diese Versuche über die Gewöhnung der Bakteriophagen an sauren Medien nachgeprüft und schreibt darüber: „Die allmähliche Gewöhnung des Bakteriophagen an Säure nach d'Herelle und Prausnitz ist nur bei Shiga-Krusebakterien und Bakteriophagen möglich, nicht dagegen bei Koli". Wenn nun die Anpassungsfähigkeit der Bakteriophagen eine charakteristische Eigenschaft der Bakteriophagen, und gleichzeitig ein Beweis für die belebte Natur desselben sein soll, muß die Anpassung nicht nur bei besonderen Arten von Bakteriophagen vorhanden sein, sondern bei allen, also auch bei Kolibakteriophagen. Dieses festzustellen, war das Ziel vorliegender Versuche.

a) Gewöhnungsversuche an salzsaures Chinin.

Chininsalze gelten im allgemeinen als sehr starke Bakterien- und Protoplasmagifte. Auch die Bakteriophagen sind als solche, wie verschiedene Untersuchungen früherer Autoren (d'Herelle (22) Eliava und Pozerski (24) und andere gezeigt haben, sehr empfindlich dagegen, indem einprozentige Lösungen schon in kurzer Zeit tötend wirken. Bei den Gewöhnungsversuchen wurde nun in der Weise verfahren, daß man von den Bakteriophagen zuerst die höchsterträgliche Konzentration des Chinin-

salzes, während einer Einwirkungsdauer von 24 Stunden genau ermittelte; diese betrug 0,21%. Hierauf brachte ich Bakteriophagen und Bakterien in eine für beide sehr gut erträgliche bedeutend geringere Konzentration von 0,1% in Bouillon und ließ sie dort aufeinander wirken bei 37°. Nach 24 Stunden filtrierte ich und gab einen Tropfen des Filtrates zu einer neuen Probe derselben Chininkonzentration und ließ die Bakteriophagen dort wieder auf frische Bakterien wirken, filtrierte und wiederholte den Versuch noch dreimal. Vom letzten Filtrat stellte ich mittels physiologischer Kochsalzlösung und einer konzentrierten Chininsalzlösung ein bakteriophagenhaltiges Röhrchen her, das einen Gehalt von 0,22% Chinin enthielt und den Bakteriophagen in der ersten Dezimalverdünnung. Physiologische Kochsalzlösung wurde deshalb gewählt, weil einerseits das Eiweiß der Bouillon durch das Chininsalz gefällt wird, andererseits nach Untersuchungen von Costa Crutz (30) der Bakteriophage in reinem Wasser ausflockt. Nach 24stündigem Stehen in dieser Salzlösung bei 37°, wozu der nicht an Chinin gewöhnte Bakteriophage auch herangezogen wurde, stellte man Vergleichsreihen über die Konzentration der beiden Bakteriophagen an. In beiden Reihen waren nun zwar gleich viel Röhrchen aufgestellt, jedoch die mit den gewöhnten Bakteriophagen deutlich stärker. Ließ ich nun den angepaßten Bakteriophagen bei einer etwas höheren Konzentration auf die Bakterien wirken durch mehrere Passagen, so zeigten sich bei Wiederholung des obigen Versuches bei einer Chininkonzentration von 0,24% ein deutlicher Unterschied. In der Reihe der angewöhnten Bakteriophagen waren sieben, in der anderen nur sechs Röhrchen aufgehellt. Die Versuche ergaben somit, daß auch der Kolibakteriophage sich gegen sie schädliche Wirkung des salzsauren Chinins abstumpfen ließ.

b) Anpassung an saure Medien.

Das Ziel dieser Versuche war wie bei den vorhergehenden, festzustellen, ob sich der Kolibakteriophage an saure Medien anzupassen vermag. In der Art der Anpassung wurde hierbei jedoch nicht festgestellt, welche Wasserstoffionenkonzentration auf den im Ruhezustand sich befindenden Bakteriophagen schädlich wirkt, eine Untersuchung, die bereits von Scheidegger (28) und Eliava und Pozerski (24) ausgeführt wurde. Von höherem Werte schien mir, genau festzustellen, ob eine Anpassung der Kolibakteriophagen in der Hinsicht möglich ist, daß sie in Medien von erhöhter oder erniedrigter P_H ihre typische Reaktion vollführen können. In früheren Versuchen war festgestellt worden, daß der vorliegende Kolibakteriophage in einem P_H-Bereich von 6,9 bis 8,0 ungehindert seine Wirkung entfalten kann. Vor der Ausführung der Versuche stellte ich zuerst eine entsprechende Menge milchsauerr Bouillonröhrchen her, deren P_H in Abstufungen von 0,2 von 6,8 bis 5,2 stiegen. Da aber schon oberhalb von 5,8 durch die Säure eine starke Ausfällung des Eiweißes in der Bouillon eintrat, und daher eine Aufhellung durch Bakteriophagen dadurch unsicher als solche zu erkennen war, war es nötig, zur Kontrolle saure anorgansiche Puffergemische als Nährboden zu wählen. Z. B.

0,4% Natriumchlorid, 0,5% Ammoniumlactat, 0,2% primäres Kaliumphosphat, 97—98% Wasser und entsprechende Mengen Milchsäure.

Die Anpassung der Bakteriophagen suchte ich nun so zu erreichen, daß ich Bakterien und Bakteriophagen mehrmals zuerst in entsprechend saurer Bouillon aufeinander wirken ließ, und dabei dann immer das letzte der aufgehellten Röhrchen zum Ansetzen der neuen Verdünnungsreihe verwandte. Dabei konnte ich beobachten, daß die Röhrchen bis zur Lyse oft drei Tage brauchten, daß diese Zeit aber entsprechend der Anpassung immer kürzer wurde. Die Versuche in einer bestimmten P_H-Konzentration wurden dann solange fortgesetzt, bis das letzte Röhrchen in Bouillon von P_H 7,6 wieder den Titer 10^{-8} besaß. Auf diese Weise gelang es, den Bakteriophagen selbst noch bei einer P_H von 5,4 wirken zu lassen, einen Säuregrad, bei welchem der nicht angepaßte Bakteriophage keinerlei Wirkung auszuüben vermöchte. Ein wichtiger Faktor bei dieser Anpassung war aber, daß nicht nur der Bakteriophage selbst in saurem Medium sich vermehren mußte, sondern daß auch der Wirtsorganismus an saure Konzentration gewöhnt wurde. Außerdem war es sehr von Vorteil, wenn der Bakteriophage nicht allein in sauren Flüssigkeiten angewöhnt wurde, sondern auch in saurem Agar.

Es scheint, daß die halbresistenten von Suzuki (40) ff. bezeichnete und näher untersuchten Bakterien besonders geeignet sind, für eine derartige Anpassung der Bakteriophagen. Auf demselben Wege, wie die Anpassung der Bakteriophagen an die saure Reaktion des Nährbodens erreicht wurde, gelang auch die Anpassung an eine alkalische Reaktion, die vorliegenden Versuchen bis P_H 8,4 fortgesetzt wurden.

Die Versuche hatten somit ergeben, daß auch der Kolibakteriophage sich an saure und alkalische Reaktion der Nährmedien anzupassen vermag und in diesen Medien seine typische Reaktion zu vollführen imstande ist.

7. Wirkung der Bakteriophagen in verschiedenen Medien.

Eine besonders wichtige Eigenschaft der Bakteriophagen besteht darin, daß nur ganz geringe Mengen spezifischer Bakteriophagen nötig sind, um unter gewissen Bedingungen große Mengen von Bakterien zur Auflösung zu bringen. Diese Eigenschaft wird besonders wertvoll bei der Anwendung zur Heilung von Infektionskrankheiten und bei der praktischen Verwendung in Medien, deren Konsistenz aus geschmacklichen und anderen Gründen nicht verändert werden kann, wie z. B. in Milch. Außerdem wird durch die Anwendung der Bakteriophagen zur Abtötung bestimmter schädlicher Bakterien erreicht, daß im Gegensatz zu den übrigen Methoden, wie Erhitzung, Desinfektionsmittel usw. in Bakteriengemischen nur bestimmte Bakterien herausgelöst werden, ohne geringste Schädigung der übrigen Bakterienflora.

Wie Gildemeister und Herzberg (41) berichten, soll die Bakteriophagenreaktion als solche unabhängig sein von der Güte des Nährbodens. Diese Ansicht kann aber meines Erachtens nicht verallgemeinert werden. Abgesehen von Alkali und Säurewirkung kann namentlich auch der kolloidale Zustand eines Nährmediums die Wirkung der Bakteriophagen stark beeinträchtigen. Doerr (42) zeigte, daß z. B. Agar und Gelatinegel auch in flüssigem Zustande die Bakteriophagenwirkung hin

dern. Andere Forscher, wie z.B. I l l e V a l l e n (43), fanden eine hemmende Wirkung im Faeces und im Blut; letztere Tatsache wird deshalb auch als Ursache der vielen Mißerfolge bei Heilversuchen im Tierkörper betrachtet.

Obgleich nun schon D o r n e r (44) nachgewiesen hat, daß die Bakteriophagenwirkung auch in steriler Molke vor sich gehen kann und ferner auf ein ev. praktische Bedeutung der Bakteriophagen in hygienischer Hinsicht zur Abtötung von pathogenen Keimen und Kolibakterien in der Milch hinweist, schien mir eine praktische Verwendung der Bakteriophagen in Milch und Milchprodukten immerhin fraglich. Die Milch stellt ein ausgeprägt kolloidales Gemenge von Fett und Kaseinstoffen dar und es war zu vermuten, daß eine Wirkung der Bakteriophagen sich noch schwieriger gestalten würde, wenn durch das Wachstum der stets vorhandenen Milchsäurebakterien erstens der Säuregrad der Milch erhöht wird, und zweitens dadurch das Kasein gerinnt und sich zusammenballt.

Nachdem es mir gelungen war, auch Kolibakterien an saure Reaktion des Nährmediums zu gewöhnen, wurde der eine hemmende Faktor der sauren Reaktion ausgeschaltet dadurch, daß ich bei den Versuchen nur Bakteriophagen verwandte, die in sauren Medien zu wirken vermochten. Eine ev. Bedeutung der hemmenden Wirkung durch Kolloide mußte der Versuch zeigen.

Als ersten Versuch mischte ich 1 ccm einer 24stündigen Kolikultur mit 1 ccm einer filtrierten Bakteriophagenflüssigkeit. Diese Mischung gab ich in einen Kolben mit 200 ccm steriler Milch; gleichzeitig wurde zur Kontrolle ein weiterer Kolben mit 200 ccm Milch nur mit einem ccm Koli geimpft. Nach 24stündigem Aufbewahren bei 30^0 zeigte die Milch im ersten Kolben überhaupt keine sichtbare Veränderung, im zweiten Kolben war die Milch dick gelegt unter leichter Blasenbildung. Das Ergebnis blieb dasselbe, wenn ich zuerst die beiden Kolben gleichmäßig mit Koli impfte und hernach erst in dem einen Kolben die Bakteriophagen zusetzte. Der Versuch hatte somit gezeigt, daß die kolloidalen Teilchen der Milch kein Hindernis bilden für den Verlauf der Bakteriophagenreaktion.

Um diesem Versuch aber mehr praktische Bedeutung beizulegen, wurden die Verhältnisse mehr denen bei der Käsebereitung angepaßt. Bekanntlich ist das Kolibakterium infolge seines Gasbildungsvermögens aus Milchzucker in der Käserei als sogenannter Käsebläher einer der größten Schädlinge. Da die Kolikbakterien ähnliche physiologische Eigenschaften, wie die Milchsäurebakterien besitzen, kann man sie nach gewöhnlichen Methoden in einem solchen Gemisch nicht in ihrem Wachstum hemmen, sondern höchstens ihre Gasbildung durch Zusatz von Salpeter teilweise unterdrücken.

In den folgenden Versuchen wurde nun, wie in den früheren zuerst 200 ccm Milch mit je 1 ccm einer Kolikultur geimpft und in den einen Kolben 1 ccm Bakteriophagenaufschwemmung gemischt; hierzu gab ich in jeden Kolben noch 1 ccm Lab und 5 Ösen einer Milchsäurebakterienkultur. Die Bakteriophagen, die dem einen Kolben zugesetzt wurden, waren an Säure angepaßte Bakteriophagen. Das Ergebnis war nun folgendes: In beiden Kolben ist die Milch dick gelegt und die Molke deutlich von dem Quark getrennt. Nach dem Abgießen der Molke ist in dem ersten Kolben, der die Bakteriophagen enthalten hatte, ein glatter Quarkkäse, ohne jede

Lochbildung, im zweiten Kolben ein zerrissener durchlöcherter Quarkkäse mit Schaumblasen darauf. Der Versuch wurde noch deutlicher, als man den Versuch in Zylindern ansetzte, wobei der bakteriophagenfreie und aufgeblähte Quark von dem gebildeten Gas an die Flüssigkeitsoberfläche getrieben wurde (photographisches Bild Nr. 14).

Derselbe Versuch wurde nun unter den verschiedensten Bedingungen wiederholt. Zuerst mit Bakteriophagen, die nicht an Säure gewöhnt worden waren. Dabei zeigte sich, daß die vorhergehende Gewöhnung der Bakteriophagen an die saure Reaktion des Mediums eine Grundbedingung für eine derartige Verwendung ist. Die beiden Quarkkäse zeigten nur geringe Unterschiede in der Blähung.

Bei weiteren Versuchen ließ ich die Bildung des Quarkkäses bei verschiedenen Temperaturen vorsichgehen. Zur völligen Labgerinnung stellte ich die Kolben alle gleichmäßig ca. 1 Stunde in 37⁰ Brutschrank, und hierauf die einzelnen bei 37⁰, 30⁰ und 18⁰ auf. Die Versuche bei 30⁰ und 37⁰ ergaben völlig gleiche Resultate. Bei 18⁰ war keine so deutliche Trennung des Labkäses von der Molke erfolgt und auch der Unterschied des entstandenen Quarkkäses war nicht so deutlich, wie bei den anderen Proben.

Während bei den bisherigen Versuchen nach dem Impfen und Mischen der Milch sofort die Bakteriophagen zugefügt wurden, wartete ich hier erst einige Zeit, und zwar bei sonst gleichen Versuchsbedingungen bei den ersten beiden Kolben 1 Stunde, bei den zweiten 6 Stunden und bei den dritten 16 Stunden bis zur Zugabe der Bakteriophagen. Das Ergebnis war aber auch hier bei Anwendung von 37⁰ bei allen drei Proben gleich gut.

Ferner wiederholte ich die Versuche unter Zusatz von Kochsalz. Mittels einer konzentrierten Kochsalzlösung stellte ich in den einzelnen Kolben einen Kochsalzgehalt von 1%, 2%, und 3% her. Auch hier war ein wesentlicher Einfluß auf die Bakteriophagenwirkung nicht zu beobachten. Zu bemerken ist nur, daß bei dem Versuch mit 3% Kochsalz auch der nicht bakteriophagenhaltige Quarkkäse nur schwachgebläht war.

Um einen Überblick über die quantitativen Verhältnisse zu erhalten, wiederholte ich bei gleichbleibender Impfmenge die Versuche mit verschiedenen Mengen von Bakteriophagen. Zu den ersten beiden Kolben brachte ich 1 ccm Kolikultur und $^1/_{10}$ Tropfen einer frisch aufgehellten sauren Kultur; zur nächsten Reihe einen Tropfen, dann zwei, vier und sechs Tropfen und 1 ccm. Dabei ergab sich, daß bei gleichmäßiger Mischung für 200 ccm Milch und 1 ccm einer 24stündigen Kolibouillonkultur, also rund eine halbe Milliarde Keime in Gegenwart von Lab und Milchsäurebakterien fünf Tropfen des virulenten Bakteriophagen genügten, um eine völlige Aufhebung der Wirkung der Kolibakterien zu erreichen. Immerhin ist die dazu erforderliche Menge Bakteriophagen im Vergleich zu einer ebenso großen Bouillonkultur viel größer, so daß doch eine starke Adsorption stattgefunden hatte.

Um die Bakteriophagenwirkung auch im Käse selbst zu beobachten, wurde zuerst aus 2 Litern Milch mittels Kolibakterien ein künstlich geblähter Quarkkäse hergestellt. Vor dem völligen Ablaufen der Molke wurde der Käse durchgeknetet, geteilt und in die eine Hälfte durch weiteres Kneten 10 ccm Bakteriophagen gemischt. Auch hier war noch eine nach-

trägliche Wirkung der Bakteriophagen eingetreten, da der nicht mit Bakteriophagen behandelte fertige Käse viel lockerer geworden war, wie der andere. Die vorliegenden Versuche zeigen somit, vaß bei entsprechenden Vorbedingungen und Auswahl genügend polyvaltenter Stämme eine Unterdrückung der Käseblähung auf rein bakteriologischem Wege zu erreichen ist.

8. Chemotaxis der Bakteriophagen.

Die Veranlassung zu diesen Versuchen gab mir eine Beobachtung, die ich teils früher bei den zuletzt beschriebenen Versuchen machte. Bei diesen Versuchen war mir aufgefallen, daß bei den oft sehr kleinen Mengen der zugefügten Bakteriophagen trotzdem in ganz kurzer Zeit das Bakteriophagenphänomen der Aufhellung eingetreten war, gleichgültig ob ein kräftiges Mischen stattgefunden hatte oder nicht. Bedenkt man nun, daß beide Bakterien und Bakteriophagen korpuskulärer Natur sind, so muß man sich wundern, daß bei der kurzen Zeit, trotz der im Verhältnis zu diesem Mikrokosmus großen Entfernungen alle Bakterien mit Bakteriophagen behaftet werden. Es lag daher die Vermutung nahe, daß der von der Natur so feinsinnig den kleinsten Lebewesen mitgegebene ,,Instinkt" bei der Suche nach Nährstoffen, den wir bei den Bakterien mit Chemotaxis bezeichnen, auch den Bakteriophagen eigen sein könnte. Da die Bakteriophagen nur im Zusammenhang mit den Bakterien leben und sich vermehren, unabhängig von der Art des Nährmediums, kamen als solche Reizstoffe nur Stoffwechselprodukte von spezifischen Bakterien in Frage.

Der Versuch wurde nun in zweierlei Weise ausgeführt: in eine hohe große Petrischale (Käseschale) hatte ich auf Glasdreiecken zwei Filtertiegel gestellt, so daß der poröse Boden der Tiegel ca. 2 bis 3 mm über dem Glasboden der Schale stand. Nach dem Sterilisieren des Apparates goß ich in die Petrischale eine verdünnte Bakteriophagenaufschwemmung in der Höhe eines cm. In den einen Tiegel gab ich 5 ccm sterile Bouillon, in den andern 5 ccm Bouillon, die schwach mit spezifischen Bakterien geimpft war. Dabei achtete ich genau darauf, daß das Niveau der Flüssigkeit in den Tiegeln nach dem Eingießen zuerst etwas höher stand, als das der außenstehenden Flüssigkeit. Das Ganze wurde nun vorsichtig und vor Infektion geschützt in 37^0 Brutschrank gestellt. Im Verlauf der nächsten Tage entnahm ich mehrmals täglich gleichzeitig aus beiden Tiegeln je eine Öse oder einen Tropfen und untersuchte sie auf Bakteriophagengehalt. Die entnommenen Mengen ergänzte ich jedesmal durch Zutropfen von steriler Bouillon; dabei zeigte sich bei den mehrfach wiederholten Versuchen, daß während der ersten drei bis vier Tage in keinem Tiegel Bakteriophagen vorhanden waren. Nach vier bis fünf Tagen war fast regelmäßig in dem Tiegel, der Kolikeime enthielt, Bakteriophagen nachzuweisen, während die reine Bouillon noch ein bis zwei Tage lang bakteriophagenfrei blieb. Als Kontrollen dienten dabei 2 Röhrchen mit derselben Bouillon, wovon das eine mit derselben Kolikultur wie der eine Tiegel geimpft wurde. Die beiden Röhrchen wurden anfangs und nach dem ersten Auftreten der Bakteriophagen in dem einen Tiegel auf Anwesenheit von Bakteriophagen geprüft, zeigten sich aber stets bakteriophagenfrei.

Bei der zweiten Versuchsart zum Nachweis einer Chemotaxis bei den Bakteriophagen füllte ich in ein steriles U-rohr eine verdünnte Bakteriophagenaufschwemmung etwa mit dem Titer 6 dreiviertelvoll. In den einen Schenkel gab ich vorsichtig tropfenweise genau 1 ccm einer Bouillon, in der ich durch mehrmaliges Wachsenlassen von spezifischen Kolibakterien und hernachfolgendes Filtrieren Stoffwechselprodukte angehäuft hatte in den anderen Schenkel genau 1 ccm einer verdünnten Bouillon oder Wasser. Nach ca. 5 Stunden entnahm ich aus jedem Schenkel unter genau gleichen Bedingungen wieder je 1 ccm, mischte mit 9 ccm Bouillon und stellte davon in bekannter Weise Bouillon-Dezimalverdünnungen her, zur Beobachtung der Aufhellung. Dabei zeigte sich, daß die Reihe, die aus dem Schenkel mit den Stoffwechselprodukten stammte, meist um ein Röhrchen in manchen Fällen auch um mehr aufgehellt war, daß also in dem einen Ausgangsröhrchen eine zehnfach stärkere Konzentration des Bakteriophagen vorhanden war, als in den anderen. Deutlicher trat diese Erscheinung noch zutage, wenn man statt einer Dezimalverdünnungsreihe im Verhältnis 1 zu 10 eine solche im Verhältnis 1 zu 3 herstellte.

Auf Grund dieser Versuche kann angenommen werden, daß tatsächlich eine Art Chemotaxis bei den Bakteriophagen vorhanden sein muß.

9. Diffussionsvermögen der Bakteriophagen im Agar.

Bei dem Streit um die Natur des Bakteriophagen spielte die Frage, ob der Bakteriophage durch Agar zu diffundieren vermag, eine sehr große Rolle. Bei den diesbezüglichen Untersuchungen ergaben sich aber durchaus widersprechende Resultate. Nach Jötten (45) sollen die Bakteriophagen durch eine 1 cm starke Agarsäule ohne Druck hindurchwandern. Diese Versuche wurden von v. Angerer (46) stark bezweifelt. Ferner haben Prausnitz und Firle (29) diesbezügliche Versuche gemacht und beschrieben, auf Grund derer sie zu der Ansicht gelangten, daß der Bakteriophage infolge seiner korpuskulären Natur nicht durch Agargel diffundiere.

Der weiteren Klärung dieser Frage dienten die folgenden Versuche.

In einem kleinen sterilen Rundkolben brachte ich mittels Pipette etwa 3 ccm stark bakteriophagenhaltigen Agar so hinein, daß außer dem Boden die Wandung nicht benetzt wurde. Nach dem Erkalten goß ich über diesen Agar noch zweimal ebenso vorsichtig eine weitere dünne Schicht zweiprozentigen bakteriophagenfreien Agars. Hierauf wurde der Kolben auf eine Vorrichtung gebracht, durch die er aufrecht stehend um seine Achse gedreht werden konnte. Unter mäßiger Drehung goß ich nun abermals 10 ccm Agar in das Kölbchen. Durch die Zentrifugalkraft wurde dabei der flüssige Agar an der Wand hochgedrückt, so daß nach dem Erkalten eine tiefe Mulde entstanden war. In diese Agarmulde goß ich nun etwa 10 ccm sterile Bouillon und ließ das Kölbchen bei 30° stehen. Durch diese Anordnung konnte keinerlei Flüssigkeitsaustausch außerhalb der Agarschicht, etwa der Glaswandung entlang erfolgen, sondern war nur direkt durch den Agar selbst möglich. Mehrmals täglich entnahm ich nun Proben der Bouillon, um sie auf die Anwesenheit von Bakteriophagen zu prüfen. Die Prüfung wurde bei der großen Wirksamkeit der Bakteriophagen so vorge-

nommen, daß ich zwei Bouillonröhrchen mit spezifischen Kolibakterien impfte, und in das eine Röhrchen einige Tropfen aus dem Kolben zugab. Gewöhnlich war die ersten drei Tage keine Spur einer Bakteriophagenwirkung zu beobachten. Nach vier Tagen waren Anzeichen von Bakteriophagen vorhanden, insofern als bei der nun angesetzten Probe das eine Röhrchen eine deutliche Aufhellung zeigte. Als ich aber den Versuch machte, diese scheinbar diffundierten Bakteriophagen weiter zu züchten, indem ich in gewohnter Weise von der aufgehellten Kultur nach Erhitzen auf 56⁰ Verdünnungsreihen anlegte, zeigte sich, daß eine Weiterzüchtung nicht möglich war; höchstens das erste Röhrchen von der Reihe wurde noch schwach aufgehellt. — Um eine Täuschung auszuschließen, daß die Bakterien vielleicht lysoresistent oder andere Bakterien durch Infektion hineingekommen seien, wurde aus diesen schwach aufgehellten Röhrchen eine Verdünnungsreihe mit echten Bakteriophagen geimpft, die aber völlig normale Aufhellung der Bakterienkulturen zeigte.

Diese Erscheinung kann nun nur damit erklärt werden, daß zwar übereinstimmend mit Prausnitz und Firle die Bakteriophagen selbst nicht diffundieren können, daß sie aber ein bakterienauflösendes Ektoenzym ausscheiden, das durch Agar zu diffundieren vermag. Im Gegensatz zu den eigentlichen Bakteriophagen kann dieser diffundierte Stoff in seiner Eigenschaft als Enzym nicht vermehrt werden und hat daher auch quantitativ begrenzte Wirkung. Darauf dürften wohl auch die verschiedenen Versuchsergebnisse und Meinungen über das Diffusionsvermögen der Bakteriophagen zurückzuführen sein. Außerdem erfährt die Erklärung der Bakteriophagenwirkung dadurch eine Erweiterung. Die Bakterien werden also, wie auch Prausnitz und andere schon vermuteten, nicht durch die Bakteriophagen selbst aufgelöst, sondern durch ein Enzym, welches die Bakteriophagen ausscheiden.

Schluß.

Bei der Durchsicht der zahlreichen Literatur über das d'Herelleche Phänomen, über das in allen Kulturländern gearbeitet und geschrieben wurde, ist die große Zerstückelung und die Einstellung auf die medizinisch-bakteriologischen Interessen charakteristisch. Mit Ausnahme von ganz wenigen größeren Arbeiten bestehen nur kleine Berichte über Einzelbeobachtungen. Bei der Ausarbeitung vorliegender Arbeit glaubte ich jedoch, nicht anders vorgehen zu können, als daß ich das Phänomen von Grund auf tudierte, und auf breiter Grundlage die Erfahrungen mit den meinen verlich und kritisch beurteilte. Trotz der vielen Untersuchungen, die darüber chon ausgeführt wurden, ergaben sich neben wichtigen Hinweisen auf die Verwendungsmöglichkeit der Bakteriophagen in der Molkerei auch neue heoretische Ergebnisse, welche zum mindesten bei weiterer Bestätigung urch andere Forscher die Natur des Bakteriophagen endgültig klarlegen. Auf Grund der Bestätigung der großen Anpassungsfähigkeit der Bakteriophagen und der von mir neu gefundenen Eigenschaften des reduktionsfördernden Reizes auf Bakterien, der Chemotaxis und der Enzymausscheidung muß im Zusammenhange mit den Einzelbefunden gesagt werden, aß die alte Anschauung d'Herelles von der „belebten Natur" des

Bakteriophagen die richtige ist. Der Anfang der Arbeit beschäftigt sich hauptsächlich mit den verschiedenen Züchtungsmethoden und dem Nachweis der Bakteriophagen. Dabei war es bei den verhältnismäßig wenigen Versuchen nach den gewöhnlichen Methoden nicht gelungen, Bakteriophagenwirkung auch bei Hefen nachzuweisen. Stalljauche hatte sich als gutes Fundmaterial für Kolibakteriophagen erwiesen. Die weiteren Ergebnisse der darauffolgenden Abschnitte sollen hier noch einmal kurz zusammengefaßt werden.

1. Die aus Kuhkot isolierten Kolistämme bestehen in der Hauptsache aus sogenannten lysoresistenten Stämmen.

2. Je nach der Empfindlichkeit der Bakterien vermag der Bakteriophage in physiologischer, morphologischer oder lytischer Hinsicht auf die Bakterien zu wirken.

3. Das beste Verfahren, bakteriophageninfizierte Kolikeime von Bakteriophagen zu befreien, ist das der Säurung.

4. Die Kolibakteriophagen besitzen in gleichem Maße, wie die anderen eine große Anpassungsfähigkeit vor allem auch an saure Medien.

5. Die Bakteriophagen üben neben einem anfänglich vermehrungssteigernden auch einen reduktionsfördernden Reiz auf die Bakterien aus

6. Die Bakteriophagenreaktion verläuft auch in Milch und Milchprodukten. Durch Verwendung von an Säure angepaßten Bakteriophagen ist eine Unterdrückung der Käseblähung möglich.

7. Die Bakteriophagen können durch Stoffwechselprodukte spezifischer Bakterien angelockt werden.

8. Die Bakteriophagen können nicht durch Agargel diffundieren scheiden dagegen einen enzymartigen Stoff aus, der durch Agar diffundiert jedoch sich nicht weiter züchten läßt.

Literatur.

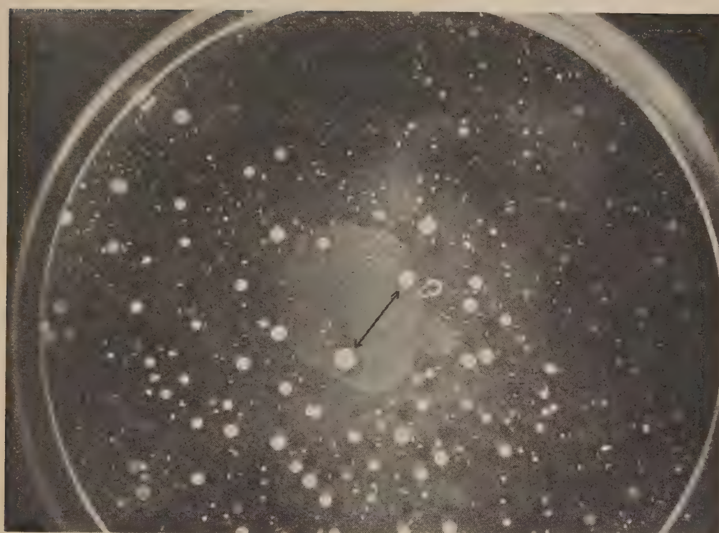
1. d'Herelle, 1921: Le bacteriophage, son rôle dans l'immunité. Monographie Paris.
2. Otto Munter und Winkler, 1922: Beiträge zum d'Herelleschen Phänonem Zeitschrift für Hyg. u. Inf. Bh. 96, S. 118.
3. Stahl, 1925: Für Milch wichtige Kuhkotbakterien und deren Bekämpfung durch Milchsäurung, Dissertation Kiel.
4. Borchardt, 1923: Weitere biologische Beiträge zum d'Herelleschen Phänomen, Klin. Wochenschr., 2. Jahrg., Nr. 17.
5. Bordet et Ciuca, 1920: Compt. R. de Soc. Biol. 1920, 83, p. 1293. Exsudats leucocytaires et autolyse microbienne transmissible.
6. Meißner, Gertrud, 1924: Über Bakteriophagen gegen Choleravibrionen Centralbl. f. Bakt., I. Bd. 91, S. 149.
7. Wolff, 1926: Über Bakteriophagenwirkung durch Trypsin. Zeitschrift f Immunitätsforschung, Bd. 45, S. 507.
8. Keller, W., 1924: Über Lysin und Trypsin. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. 103 S. 117.
9. Ikoma, 1924: Studien über Bakteriophagenwirkung. Centralbl. f. Bakt. I. Bd. 91, S. 554.
10. Stutzer, 1926: Darmbakterien der Kaltblüter. Centralbl. f. Bakt. II Bd. 66, S. 344.
11. Meyeringh, 1922: Über Bakterienfiltration mit Membranfiltern. Zeitschr f. Hyg. u. Infekt., Bd. 97.

12. v. Preisz, 1925: Die Bakteriophagie. Verl. Fischer in Jena.
13. Hoder, 1925: Mutationserscheinungen durch Bakteriophagenwirkung. Zeitschr. f. Immunitätsf. 44, S. 423.
14. Ogata, 1925: Über die Beeinflussung biologisch-chemischer Eigenschaften der Bakterien durch Bakteriophagen. Zeitschr. f. Immunitätsf. 1925, 45, S. 465.
15. Bail O. u. Okuda, 1924: Der Abbau lebender Bakterien durch Bakteriophagen. Arch. f. Hyg., Bd. 92, S. 251.
16. Werthemann, 1923: Titerbestimmungen, ... im Artikel von Dörr und Grüninger. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. 97, S. 212.
17. Gildemeister u. Herzberg, 1925: Zur Theorie der Bakteriophagen. Zentralbl. f. Bakt. I. Bd. 93, S. 402—420.
18. Flu, 1925: Ist Bakteriophagie eine Funktion von Bakterien, die von der Temperatur abhängig ist? Zentralbl. f. Bakt. I. Bd. 97, S. 1.
19. Hoder u. Suzuki, 1926: Über die Gewinnung von Bakteriophagen aus Pankreasextrakten. Centralbl. f. Bakt. I. Bd. 98, S. 433.
20. Manninger, 1926: Beitrag zur Kenntnis zur Bakteriophagea. Centralbl. f. Bakt. I. Bd. 99, W. 203.
21. Meuli H., 1923: Studien zum Bakteriophagenproblem. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. 99, S. 46.
22. d'Herelle, 1925: Die Natur der Bakteriophagen, Centralbl. f. Bakt. I. Bd. 96, S. 385.
23. Otto u. Winkler, 1922: Deutsche med. Wochenschrift, S. 388.
24. Eliava u. Prozerski, 1921: Compt. r. de Soc. Biol. 85, Bd. 139.
25. Hoder, 1924: Vergleichende Untersuchungen von Coli-Dysenterie und Paratyphusbakt. Centralbl. f. Bakt., Bd. 93, S. 424.
26. Otto u. Munter, 1923: Das Bakteriophagenlysin. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. 89, S. 302.
27. Ogata, 1925: Zur Entstehung des Bakteriophagen in alten Kulturen. Centralbl. I. Bd. 93, S. 329.
28. Scheidegger, 1923: Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf das lytische Agens und den Ablauf der übertragbaren Bakteriolyse. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. 99, S. 403.
29. Prausnitz u. Edith Firle, 1924: Neuere Untersuchungen über das Wesen der Bakteriophagen. Centralbl. f. Bakt., Bd. 93, S. 148.
30. Gòzony, 1923: Reduktionsversuche mit Bakterien. Centralbl. f. Bakt., Bd. 89, S. 193.
31. Gòzony u. Suranyi, 1925: Reduktionsversuche mit Bakteriophagen. Centralbl. f. Bakt., Bd. 95, S. 353.
32. Kauffmann, 1926: Das d'Herellesche Lysin als reduktionssteigerndes Mittel; zugleich eine erweiterte Reduktionsmethode. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. 105, S. 594.
33. Shwartzmann, 1926: The rate of reduction methylenblue by bazillus coli in the course of the bakteriophagenphenomen. Zentralbl. f. Bakt. I. Bd. 101, S. 61—64.
34. Kimura, 1925: Mitteilung über die Bindung von Bakteriophagen an Bakterien. Med. Klin. 1925, S. 1695.
35. Christiansen, 1926: Das Wesen der Reduktaseprobe und ihre Bedeutung f. d. Praxis. Molkereizeitung Hildesheim, Nr. 102 ergänzt, in Milchwirtschaft-Zeitung Lübeck Nr. 42.
36. Deerr u. Grüninger, 1922: Studien zum Bakteriophagenproblem. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. 97, S. 209.
37. Schuurmann, 1925: Der Bakteriophage, ein lebender Organismus. Centralbl. f. Bakt. I. Bd., S. 97.
38. Ordelt, 1924: Der Einfluß der Reaktion auf das Baktphagum intestinale und andere Versuche. Referat im Centralbl. f. Bakt. Ref. T., 78. S. 519.
39. Costa Crutz, 1924: Sur l'influence des elektrolytes dans la lyse par le bakteriophage. Compt. R. de Soc. Biol. 90, p. 236.
40. Suzuki, 1926: Künstliche Infektion von Bakterien mit Bakteriophagen. Zeitschr. f. Immunitätsf. 47, S. 143.

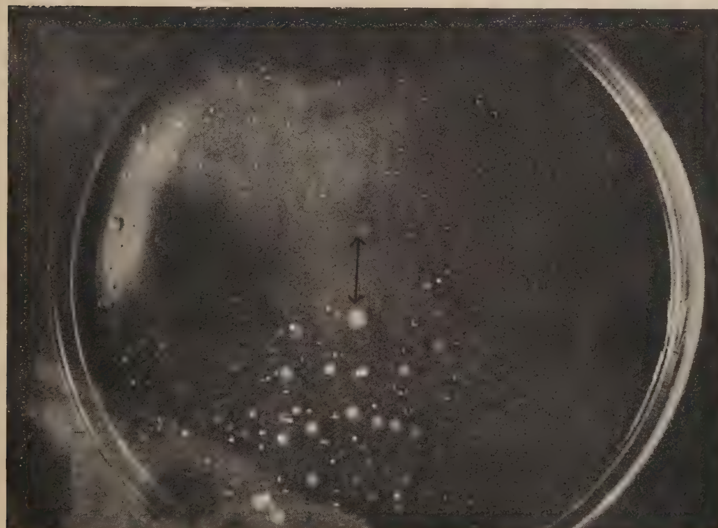
41. Gildemeister, 1924: Über das d'Herellesche Phänomen. Centralbl. f. Bakt., Bd. 91, S. 12.
42. Doerr, 1923: Studien zum Bakteriophagenproblem. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. 97, S. 422.
43. Vallen, 1924: Über Schädigung der Leukozyten beim d'Herelleschen Phänomen. Centralbl. f. Bakt. I. Bd. 91, S. 424.
44. Dorner, 1926: Die Bakteriophagie und Milchwirtschaft, Landwirtschaft. Jahrb. d. Schweiz, S. 265.
45. Jötten, 1922: Über das sog. d'Herellesche Phänomen. Klin. Wochenschr., S. 2181.
46. v. Angerer, 1923: Beiträge zum Bakteriophagenproblem. Arch. f. Hyg., Bd. 92.

Anhang.

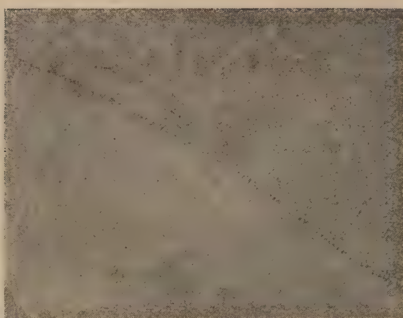
Nr. 1.



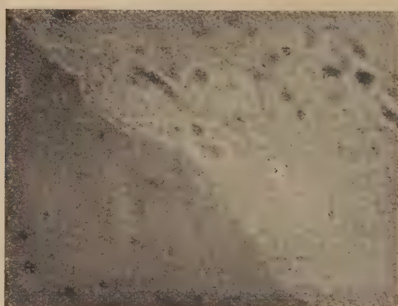
Nr. 2.



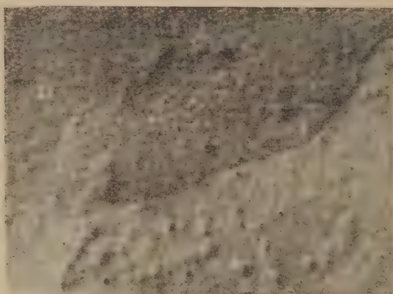
Nr. 1 und 2. Mit Bakteriophagen infizierte Kolonien lysoresistenter Bakterien, nach 1 Tag und nach 4 Tagen. (Text S. 204.)



Nr. 3.
Normale Bakterienkolonie,
48 Stunden alt, 1 : 500.
(Text S. 204.)



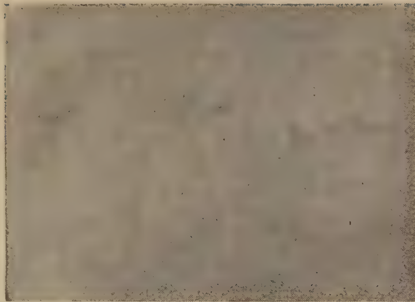
Nr. 4.
Mit Bakteriophagen
infizierte Bakterienkolonie
nach 4 Tagen.
1 : 500.
(Text S. 204.)



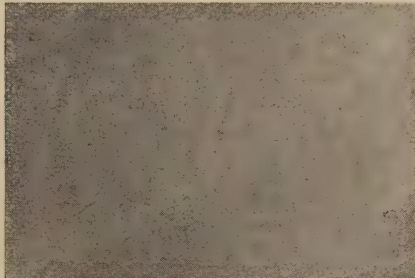
Nr. 5.
Kolonie Nr. 4 nach 5 Tagen.
(Text S. 204.)



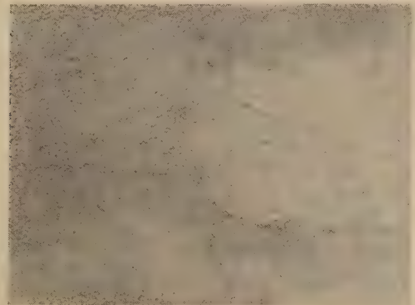
Nr. 6.
Kolonie Nr. 4 nach 7 Tagen;
völlig phagiert.
(Text S. 205)



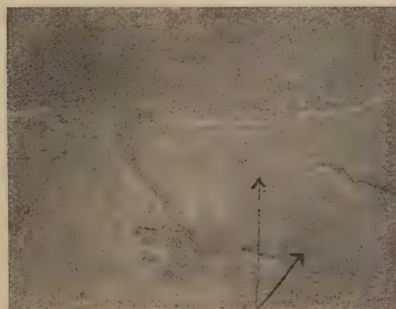
Nr. 7.
Normale Bakterienkolonie von Stamm 97 mit Bakteriophagen infiziert nach 4 Stunden. 1 : 500.
(Text S. 207.)



Nr. 8.
Kolonie von Nr. 7 nach $5^1/_2$ Stunden.
(Text S. 207.)

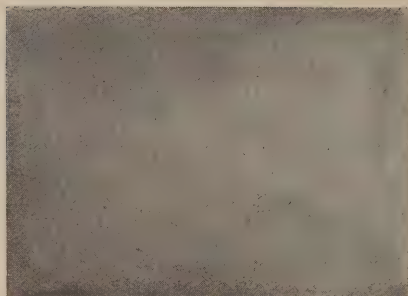


Nr. 9.
Teilweise phagierte Kolonie von Stamm 97. 1 : 500.
(Text S. 207.)

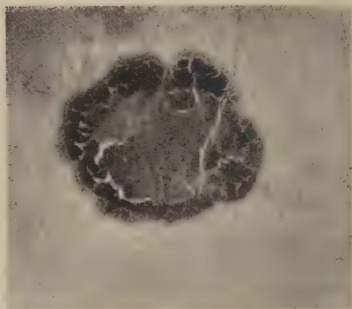


Nr. 10.
Involutionsformen von Stamm 97. 1 : 500.
(Text S. 207.)

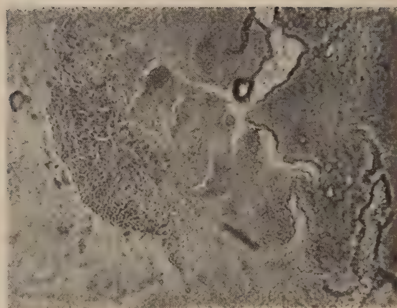
Kriechende Bakterien



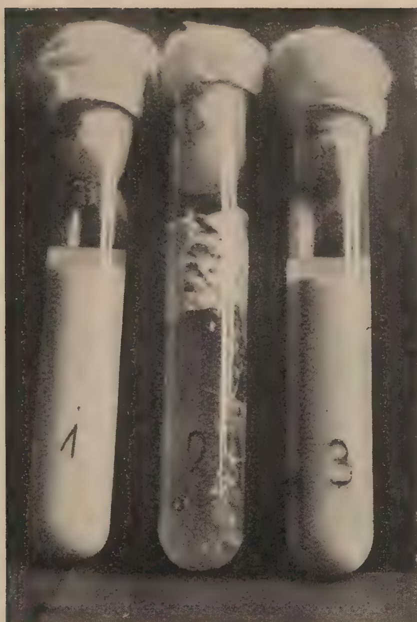
Nr. 11.
Involutionsformen von
Stamm 97. 1 : 500.
(Text S. 207.)



Nr. 12.
Adhäsionspräparat einer
teilweise phagierten Kolonie.
Gefärbt. 1 : 50.
(Analog Bild Nr. 5.)



Nr. 13.
Dasselbe Präparat.
1 : 500.
(Analog Bild Nr. 5.)



Nr. 14. Röhrchen 1: Milch + Milchsäurebakt. + Lab
,, 2: ,, + ,, + ,, + Colibakt.
,, 3: ,, + ,, + ,, + ,, + Baktph.
(Text S. 222.)

Zur Frage der chemikosanitären Wasseruntersuchung in bezug auf organische Stoffe.

Von
Prof. Dr. **L. M. Horowitz-Wlassowa**
und den Assistentinnen **A. M.** und **F. M. Goldenberg.**
(Hygienische Abteil. des bakteriologischen Instituts in Ekaterinoslaw-Ukraïna.)
(Bei der Redaktion eingegangen am 8. Mai 1927.)

Der Gehalt natürlicher Gewässer an organischen Stoffen gehört bekanntlich zu den wichtigsten Merkmalen, die bei der sanitären Bewertung eines Wassers berücksichtigt werden; aber die für deren Bestimmung dienenden Methoden, wie die Oxydabilität nach Kubel, die Bestimmungen des Glühverlustes, des Verbrauches des gelösten Sauerstoffs beim Aufbewahren des Wassers usw., in quantitativer ebenso wie in qualitativer Hinsicht ergeben recht wenig. Der Glühverlust ist bekanntlich nicht nur auf organische, sondern auch auf minerale Stoffe (Bikarbonate, Chloride usw.) zurückzuführen, und was die Oxydabilität nach Kubel anbetrifft, so liegt der Gedanke nahe, daß dieselben Werte der Oxydabilität bei verschiedenen Verhältnissen auch verschiedene sanitäre Bedeutung haben können. — Um diese Frage näher zu erörtern, haben wir mit unseren Assistentinnen A. M. und F. M. Goldenberg eine Anzahl von Wasserproben, die dem Flusse Dnjepr entnommen worden sind, ausführlich nach dem folgenden Schema studiert:

1. Oxydabilität nach Kübel,
2. Oxydabilität nach 1 stundenlangem Sieden mit der Chamäleonlösung,
3. dasselbe nach 2 Stunden Sieden,
4. Oxydabilität nach Schultze,
5. Oxydabilität nach Fowler, bei Zimmertemperatur
   a) nach 3 minutenlangem Kontakt des betreffenden Wassers mit der Chamäleonlösung,
   b) nach 4 Stunden,
7. nach 24 Stunden,
8. Probe nach Bonjean über die jodbindende Eigenschaft des Wassers,
9. Probe nach Levy-Spitta resp. die Bestimmung in Prozenten des während 24 Stunden verbrauchten gelösten Sauerstoffes,
10. Bestimmung des N-Gehaltes.

Die Tabelle I faßt diese Angaben zusammen. Um einen Eindruck von dem Verhältnis der leicht oxydierbaren Stoffe, zu denen die sich erst bei 100° oxydieren lassen, zu gewinnen, haben wir Verhältniszahlen der Werte von 3′ und 4stündigen Fowlerschen Proben zum Werte der Kubelschen Probe in Prozenten berechnet, — der Kürze wegen sind diese Werte als $\frac{3' F}{10' K}$ und $\frac{4 st F}{10' K}$ bezeichnet. Es muß dabei im Auge behalten werden, daß die Probe von Kubel beide Kategorien von Stoffen, wenn auch nur in partieller Weise, oxydiert. Die relative Größe dieser Verhältniszahlen bedeutet also das Vorhandensein größerer Mengen von leicht oxydierbaren organischen Stoffen (minerale Stoffe, welche die Genauigkeit der Resultate zu beeinflussen imstande sind, wie Oxydule von Fe, Mn, Nitrite usw., konnten in unseren Proben ausgeschlossen werden). — Um ferner eine annähernde Vorstellung über die Geschwindigkeit der Oxydation der betreffenden Stoffe bei 100° zu geben, haben wir in derselben Weise die Verhältniszahlen der Werte der 2stündigen Kübelschen Probe zu Werten der klassischen 10′-Probe berechnet und in der Tabelle als $\frac{2 st K}{10' K}$ bezeichnet. Die Deutung dieser letzteren Zahlen bietet aber gewisse Schwierigkeiten dar, da niedere Werte ebenso auf die rasche Oxydation binnen der ersteren 10 Minuten des Versuchs zurückgeführt werden können, wie es z. B. der Fall für die Glukose ist (siehe die Tabelle II), wie auf die langsamere Oxydation binnen der 2stündigen Zeitspanne, resp. auf die überhaupt unbedeutende Oxydierbarkeit, wie es für den Harnstoff usw. gilt.

Tabelle I.

Wasser	Tag der Entnahme	Kubel 10′	Kubel 1 St.	Kubel 2 St.	Schultze	Fowler 3′	Fowler 4 St.	Fowler 24 St.	Bonjean	Glühverlust	Verbr. des gelösten O 24 St. in %	N-Gehalt	$\frac{3' F}{10' K}$	$\frac{4 St. F}{10' K}$	$\frac{2 St. K}{10' K}$
ɔjeprwasser 1	29. VI.	16,18	—	—	10.93	—	8,28	—	4,5	112,8	20,6	3,36	—	51,1	—
,, 2	6. VII.	16,62	—	—	14,59	5,5	12,21	20,62	6,7	121,6	17,7	2,3	33,7	73,4	—
,, 3	16. VII.	25,6	36,0	—	28,8	4,54	11,5	16,42	1,5	109,0	18,9	3,08	17,7	44,9	—
,, 4	27. VII.	25,08	41,04	—	28,8	4,9	9,0	16,46	0,98	105,0	11,9	3,64	19,3	35,8	—
,, 5	7. VIII.	20,2	37,3	64,7	26,7	5,1	8,97	—	3,0	113,0	18,8	3,5	24,9	44,3	320
,, 6	17. VIII.	19,8	29,9	55,2	36,5	4,8	9,88	—	1,25	161,2	—	3,25	24,2	49,9	270
,, 7	4. XII.	16,0	16,36	18,4	14,61	1,15	5,67	—	0,59	82,0	4,7	1,59	7,2	35,4	110
,, 8	8. XII.	26,4	35,49	46,5	33,1	1,1	2,9	—	0,45	84,0	3,7	1,05	4,1	10,9	170
ʼunnenwasser .	9. XII.	24,0	49,6	58,4	29,6	3,9	6,92	9,6	1,1	895,0	60,0	2,1	16,2	28,8	243

Es leuchtet aus dieser Tabelle hervor, daß trotz den gleichen Werten der Oxydabilität nach Kubel die Proben 1, 2 und 7 in bezug auf die Natur ihrer organischen Stoffe nicht identisch sind, — namentlich stehen die zwei ersteren Proben ziemlich nahe aneinander, in dem Sinne, daß die beiden ziemlich reich an leicht oxydierbaren N-haltigen organischen Stoffen sind, wie aus den hohen Werten der entsprechenden Verhältniszahlen, des Glühverlustes, des Sauerstoffverbrauchs, der Probe von Bonjean und

des N-Gehaltes hervorgeht. Die Probe n^0 7 dagegen liefert in entsprechenden Spalten niedrigere Werte und scheint also vorzugsweise schwer oxydierbare N-arme Stoffe zu enthalten. Dasselbe gilt auch für die Probe n^0 8, welche die beinahe gleiche Oxydabilität nach Kubel wie die Proben 3 und 4 aufweist und dessen ungeachtet von diesen beiden grundverschieden ist, da sie sich als viel ärmer an leicht oxydierbaren, N-haltigen und jodbindenden organischen Stoffen erweist. Es sei bemerkt, daß die Proben 1, 2, 3 u. 4 im Sommer entnommen wurden, wann der Fluß an der betreffenden Stelle durch Baden und reges Bootfahren recht beschmutzt wird; die Proben 7 und 8 dagegen sich auf winterliche Zeit beziehen. Demnach liegt der Gedanke nahe, daß die Oxydabilität winterlicher Proben vorzugsweise pflanzlicher Herkunft sei. Um diese Hypothese zu stützen, haben wir pflanzliche Infusionen hergestellt und deren chemische Zusammensetzung mit denen unserer Wasserproben nach dem obigen Schema verglichen. Zu diesem Zwecke wurden grüne oder trockene Blätter in ganz kleine Stückchen zerschnitten und im destillierten Wasser (1 g für 1 ccm Wasser) 1—15 Tage mazeriert; die Werte beziehen sich auf 1 g des betreffenden Stoffes. In derselben Weise wurden auch verschiedene organische Stoffe (Kohlenhydrate, Eiweiß, Fett und deren Spaltungsprodukte) tierischer und pflanzlicher Herkunft, die mit Abwässern ins Flußwasser gelangen können, studiert; die erhaltenen Werte beziehen sich ebenfalls auf 1 g des entsprechenden Stoffes (für die Bestimmungen wurden stets 0,01% Lösungen verwendet); für den Harn und den flüssigen Kot sind die Werte für 1 ccm berechnet.

Tabelle II.

	Oxydabilität nach Kubel			Oxydabil. n. Schultze 10′	Oxydabilität nach Fowler			Bonjean-probe	Gesamt-N	3′ F / 10′ K	4 St. F / 10′ K	2 St. K / 10′ K	Verhält zwische Menge Stoffes d. Wert Oxydab nach K
	10′	1 St.	2 St.		3′	4 St.	24 St.						
Frisch hergestellte 15 Tage alte Infusion grüner Blätter	192,0	317,0	448,0	233,0	6,0	14,0	16,0	12,0	47,0	3,1	7,3	233,0	—
Infusion grüner Blätter	26,4	28,0	51,0	32,0	0,51	3,27	3,27	0,1	0,52	1,9	12,4	193,1	—
15 Tage alte Infusion trockener Blätter	26,4	32,0	60,8	26,4	1,46	2,86	3,35	0,19	2,56	5,5	10,8	230,0	—
Dextrose	750,2	1088,0	—	941,0	2,2	46,0	276,0	—	—	—	6,1	145,0	1
Milchsäure	336,0	447,2	509,0	240,8	4,3	103,3	279,3	—	—	1,3	30,8	151,5	2
Essigsäure	120,0	264,0	600,0	128,0	23,0	46,0	91,0	—	—	19,2	36,3	500,0	8
Baumwolle (in H_2SO_4 gelöst)	357,3	1061,3	1193,3	328,0	23,7	85,5	194,5	—	—	6,6	23,9	157,0	2
Oleum Helianthi	68,0	134,0	154,0	46,4	0,6	7,3	12,8	0,6	—	10,7	18,8	226,4	14
Käuflich. Pepton	376,0	752,0	984,0	488,0	54,6	97,7	—	130,0	170,0	14,5	27,2	261,7	2
Asparagin	146,0	408,0	670,0	506,0	22,0	50,0	86,0	—	211,0	15,0	54,6	346,5	6
Harnstoff	0,5	0,7	1,1	1,7	—	0,16	—	4,0	466,0	—	17,7	220,0	2000
Harnsäure	290,0	403,0	570,0	379,0	8,8	90,0	160,0	160,0	333,0	3,0	31,0	196,8	3
Harn	8,03	22,8	24,4	8,3	1,16	3,72	6,5	0,9	ca. 20	13,1	42,1	300,0	—
Kot	8,6	16,8	25,7	10,4	2,37	4,07	5,08	1,2	ca. 15	27,5	45,0	298,0	—

Es soll hier hervorgehoben werden, daß der Grad der Verdünnung des oxydierbaren Stoffes den Wert der Oxydabilität in bedeutender Weise beeinflußt, — namentlich, wie wir es mehrmals beobachten konnten, ergibt die Probe für dieselbe Menge des beliebigen oxydierbaren Stoffes größere Werte, wenn der Versuch mit mehr verdünnten Lösungen angestellt wird. Dementsprechend steigen auch die Werte der Oxydabilität, wenn die Chamäleonlösung im großen Überschuß zugesetzt wird, — Tatsachen, die gewiß vom methodologischen Standpunkt zu berücksichtigen sind.

Die Verhältnisse scheinen also denen ähnlich zu sein, die z. B. bei der Bestimmung der Chlorzahl resp. der chlorbindenden Eigenschaft eines Wassers zur Beobachtung kommen, — die Chlorzahl steigt mit der Menge des zugesetzten Chlorkalks —, diese Tatsache, die wir ebenso wie andere Verfasser beobachten konnten, wird von Glaser auf das Massenwirkungsgesetz zurückgeführt.

Bei der Berücksichtigung der Tabelle II sehen wir, daß die frisch hergestellte Infusion größere Mengen von N-haltigen organischen Stoffen enthält; trotzdem aber ihr Gehalt an Stoffen, die sich bei Zimmertemperatur oxydieren lassen, gering ist. Beim längeren Aufbewahren dieser Infusionen bei 35^0 kommen verschiedene Verwandlungen zur Beobachtung, die in folgender Weise zusammengefaßt werden können. Die Flüssigkeit bekommt eine braungelbe Farbe und eine ausgeprägte saure Reaktion (der Säuregrad der Verdünnung $^1/_{100}$ entspricht 50 ccm der Normalsäure für 1 l, $P_H = 5{,}4$); der N-Gehalt sinkt in erheblicher Weise herab infolge der Verflüchtigung des sich bildenden NH_3. (So haben wir während 2 Wochen die Verflüchtigung von 55,2 mg NH_3 aus 100 ccm der Infusion konstatieren können.) Es sei noch hinzugefügt, daß der Glühverlust der frisch hergestellten Infusion 19,0 mg ergab, während der der 15 Tage alten Infusionen von 13,0—15,0 schwankte. Der Gehalt an organischem C erwies sich als 12mal höher als der N-Gehalt. Der Vorgang scheint also der echten Humifikation sehr nahe zu stehen, die bekanntlich durch die Bildung saurer N-armer und C-reicher organischer Stoffe und braungelber Farbstoffe gekennzeichnet wird. Es sei dabei bemerkt, daß die bakteriologische Untersuchung der alten Infusionen erst eine kümmerliche Bakterienvermehrung aufwies (augenscheinlich wegen der sauren Reaktion), in der 2 Arten vertreten waren: Micrococcus lacticus und eine anärobe Art Granulobacter pectinovorum von Bejerinck, die als Erreger der Pektinstoffgärung gilt. — Diese Infusionen wurden mit dem Flußwasser in bezug auf ihre organische Zusammensetzung und auf ihren Farbton verglichen. Das Dnjeprwasser hat eine merkliche gelbliche Farbe, die dem Farbton der russischen Standardlösung sehr nahe steht. Diese Lösung wird in folgender Weise hergestellt: 2,5 g Fe_2Cl_6 werden in 5 ccm HCl 1,19 gelöst und die Lösung mit destilliertem Wasser bis 1 l verdünnt; dazu werden 100 ccm von 0,5% $CoSO_4$ hinzugefügt (leider mußten wir anstatt des $CoSO_4$, das uns nicht zur Verfügung stand, $CoCl_2$ anwenden). Wurde anstatt der Standartlösung unsere 15 Tage alte Infusion in der Verdünnung $^1/_{1000}$ angewendet, so traf deren Farbton mit dem des Dnjeprwassers genau zusammen, als ob wir in beiden Fällen die Infusion von 1 g von Pflanzenresten in 1 l von destilliertem Wasser hätten. Vergleichen wir nun die

Angaben, die sich auf winterliche Dnjeprproben wie n^0 8 (Tabelle I) und auf unsere 2wöchentliche Infusionen beziehen, so erweisen sich beide Reihen als fast in überraschender Weise zusammentreffend; der Hauptunterschied in bezug auf den Glühverlust läßt sich in befriedigender Weise durch die mineralische Zusammensetzung des Dnjeprwassers erklären, welches erhebliche Mengen von Bikarbonaten enthält (seine Alkalinität schwankt von 3,5—4,0, die Menge von CO_2 35—50 mg). Es folgt daraus, daß die Angaben der Analyse die Hypothese über die pflanzliche Herkunft organischer Stoffe in den besprochenen Dnjeprproben keineswegs widersprechen. Es soll hinzugefügt werden, daß der Farbstoff des Wassers sich gegen verschiedene extrahierende Stoffe, wie $CHCl_3$, Äther, Amylalkohol usw. in derselben Weise verhält wie der Farbstoff unserer Pflanzeninfusionen. Namentlich läßt er sich vollständig durch angesäuerten Amylalkohol extrahieren (um den Farbstoff des Wassers für diese Versuche zu konzentrieren, haben wir die Methode der Koagulation mit $Al_2(SO_4)_3$ benutzt.

Versuchen wir nun die Werte unserer Oxydabilität nach Kubel auf verschiedene organische Stoffe tierischer Herkunft, die in Abwässern in großen Mengen vorkommen, zurückzuführen, so stoßen wir dabei auf manche Hindernisse und Widersprüche.

So können wir z. B. denselben Wert für die Kubelsche Probe bekommen, wenn wir annehmen, daß sie von 3 ccm frischen Harns oder 3 ccm flüssigen Kotes bedingt wird; alle anderen Werte unserer Tabelle, insbesondere der N-Gehalt sollten aber in diesen Fällen erheblich höher sein, abgesehen davon, daß bakteriologische Angaben die bedeutende Steigerung der Bakterienzahl und des Kolititers aufweisen sollten. Wäre die Oxydabilität durch städtische Abwässer bedingt (deren Oxydabilität den Mittelwert 260 ergibt, so daß wir zehnfache Verdünnung mit dem Flußwasser annehmen müssen), so würde unerläßlich der NH_3-Gehalt bis 10—11 mg, die Bakterienzahl bis 1 Million, der Kolititer bis 0,00005 usw. steigen, da die betreffenden Werte für Abwässer zehnfach größer sind. Diese Hypothese steht also nicht in Einklang mit den wirklichen Angaben über die chemiko-bakteriologische Zusammensetzung des Dnjeprwassers). Diesen Angaben über das Dnjeprwasser können Angaben über städtisches Brunnenwasser gegenübergestellt werden, das bei völliger Farblosigkeit (sogar des Bodensatzes nach der Koagulation) große Mengen von leicht oxydierbarer Stoffe, auch das Vorhandensein von NH_3, N_2O_3 und N_2O_5, großen Verbrauch von gelöstem Sauerstoff, großen Glühverlust und schließlich hohen Kolititer aufweist, so daß die Schlußfolgerung über die Verunreinigung der Brunnenwässer vorzugsweise durch Abfallstoffe tierischer Herkunft hier völlig berechtigt erscheint.

Noch andere Schlüsse über den Wert der Oxydabilitätsprobe können aus den obigen Angaben gezogen werden. So weist die Tabelle II darauf hin, daß die Mengen des verbrauchten Sauerstoffs bei der Ausführung der Kubelschen Probe für verschiedene organische Stoffe höchst schwankend sind, so verbraucht z. B. die Glukose in 0,01% Lösung während des 10minutenlangen Kochens mit der Chamäleonlösung ca. 75% der Gesamtmenge des Sauerstoffs, welche für deren vollkommene Oxydation nötig ist (da, wie es aus der Formel $C_4H_{12}O_6 + 6\ O_2 = 6\ CO_2 + 6\ H_2O$

ersichtlich, 1 g der Glukose 1,07 g des O erfordert). Eiweiß (resp. Pepton) dagegen verbraucht bei derselben Versuchsanordnung kaum 25,5% der Gesamtmenge des O, die für dessen völlige Oxydation erforderlich ist (1,5 g Sauerstoff für 1 g Eiweiß, wie aus der Formel $C_{72}H_{112}N_{18}O_{22}S + 77CO_2 = 9\,CO\,(NH_2)_2 + 37\,H_2O + H_2SO_4$ ersichtlich ist). Sogar nach 2 Stunden steigt die Menge des verbrauchten O erst bis 65,6%. Es folgt daraus, daß an peptonartigen Stoffen reiche Abwässer eine niedrigere Oxydabilität nach Kubel bedingen als Abwässer mit aquivalenten Mengen von glukoseartigen Stoffen, während die Verunreinigung des Wassers im ersteren Falle vom sanitären Standpunkte aus ebenso und sogar mehr schädlich ist als im letzteren.

Insofern verschiedene organische Stoffe sich bei der Ausführung der Kubelschen Probe in verschiedenster Weise verhalten, so erscheint die in Handbüchern empfohlene Regel, die Menge organischer Stoffe im Wasser durch Multiplizierung der Werte der Kubelschen Probe mit 20 zu rechnen, ganz unbegründet zu sein, da dieser Faktor, wie aus der letzten Kolonne der Tabelle II ersichtlich, höchst schwankend und vom Werte 20 ziemlich entfernt erscheint. Demnach muß die Anwendung der obigen Regel unerläßlich zu irrigen Schlüssen führen, wie es gerade für das Dnjeprwasser der Fall ist. Tatsächlich steigt dessen Glühverlust nicht über 100 mg und der organische C nicht über 15 mg, während die Berechnung der Menge der organischen Stoffe nach der obigen Regel 300—500 mg ergibt.

Es soll hier noch hervorgehoben werden, daß der Verbrauch des gelösten O an Intensität viel weniger ausgeprägt ist als die Werte der Fowlerschen Proben, obgleich der Vorgang an und für sich in beiden Fällen derselbe ist. So haben wir für eine Wasserprobe den Verbrauch von 0,6 mg des gelösten O nach 24 Stunden, 0,9 mg nach 48 Stunden konstatiert, während entsprechende Werte der Fowlerschen Proben 20,62 und 20,94 mg waren, für eine zweite Probe wurden nach 4 Tagen 3,37 mg des gelösten O verbraucht, während die Fowlersche Probe nach 48 Stunden 16,42 mg ergab; für eine dritte wurde nach 7 Tagen der Verbrauch von 6,76 mgr konstatiert, während die Fowlersche Probe nach 2 Tagen 13,78 mg ergab usw. Es drängt sich der Schluß auf, daß die Oxydation unter der Wirkung des Sauerstoffs in statu nascendi viel intensiver verläuft als unter der Wirkung des gelösten O, der sich in inerter Weise verhält. Demnach scheinen die verschiedenen Zahlen nach Fowler für die sanitäre Bewertung eines Wassers zuverlässiger zu sein als die Proben von Levy und Spitta.

Auf Grund dieser Angaben glauben wir berechtigt zu sein, folgende Schlüsse zu formulieren:

1. Gleiche Werte der Oxydabilität nach Kubel können vom sanitären Standpunkte nicht gleichwertig sein (im Zusammenhange mit zeitlichen und örtlichen Verhältnissen). Die Probe an und für sich gibt keine Auskunft über die tatsächliche Menge der im Wasser vorhandenen organischen Stoffe und deren Herkunft.

2. Die Ergänzung der Kubelschen Probe durch die Fowlerschen Proben erlaubt die Frage der sanitären Bewertung eines Wassers genauer zu beantworten, da organische Stoffe tierischer Herkunft, die in sanitärer Hinsicht insbesondere wichtig sind, sich bei Zimmertemperatur gewöhn-

lich leichter oxydieren lassen als die Pflanzenreste. Die Proben von Fowler sind für solche Untersuchungen zuverlässiger als die Bestimmungen des Verbrauchs des gelösten Sauerstoffs nach Levy und Spitta.

3. Treten im Wasser organische Stoffe pflanzlicher Herkunft in den Vordergrund, so ist das Wasser (dessen Oxydabilität überhaupt hoch sein mag) durch folgende Merkmale gekennzeichnet: gelblicher Farbton, der der Farbe pflanzlicher Infusionen nahe steht, niedrige Koeffiziente $\frac{3' \text{ F}}{10' \text{ K}}$ und $\frac{4 \text{ st F}}{10' \text{ K}}$, niedriger N-Gehalt, niedrige Werte nach Bonjean, — abgesehen von bakteriologischen Angaben, die für solche Gewässer mäßige Bakterienzahl und einen niederen Kolititer aufweisen.

Variola-Vakzinestudien II[1]).

Zur Beurteilung der Hirn- und Hodenlapine.

Von

Privatdozent Dr. **Winkler,**

1. Assistent am Hygienischen Institut Rostock.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Rostock, Direktor: Prof. Dr. v. Wasielewski.)

(Bei der Redaktion eingegangen am 23. Mai 1927.)

Versuche mit Gehirn- und Hodenlapine.

Die Kultur des Variola-Vakzineerregers auf künstlichem Nährboden ist bisher nicht gelungen. Seine Fortzüchtung war bis vor kurzem nur durch Hautimpfpassagen auf Mensch oder Tier möglich. Aus den entstehenden Hauteruptionen aber ist das Virus frei von Gewebebestandteilen und Bakterien in größerer Menge nicht zu gewinnen. In mehr oder minder umständlichen Verfahren muß man es erst von den Nebenkeimen und bei Bedarf auch von den gröberen Gewebeteilen des Wirtstieres befreien, wenn man ein möglichst einwandfreies Impfmaterial zu praktischen oder wissenschaftlichen Zwecken haben will. Von Noguchi (1915) und Marie (1920), Levaditi und seinen Mitarbeitern Harvier und Nicolau (1921) sowie Krumbach (1923) wurden nun in den letzten Jahren zwei Verfahren angegeben, mit deren Hilfe es gelingen soll, den Variolavakzine-Erreger wenigstens frei von Nebenkeimen in größerer Menge passagenweise zu züchten. Es handelt sich um Gehirn- und Hodenimpfungen von Kaninchen. Vakzineimpfungen des Kaninchengehirnes hatten mit Erfolg bereits 1901 Calmette und Guérin ausgeführt, ohne den beschrittenen Weg aber weiter zu verfolgen.

---

[1]) Diese Arbeit bildet eine Fortsetzung der im Jahre 1925 von Blunck veröffentlichten Variola-Vakzine-Studien I im Centralbl. f. Bakt. Abt. I Orig.-Bd. 94. Sie benutzt eine im Institut 1925 angegebene Technik des Vakzine-Nachweises im abgeschabten Hornhautepithel durch Frischfärbung und diente gleichzeitig der Erprobung der Zuverlässigkeit dieser Methode an dem reichen Organmaterial, das Herr Winkler zu diesen Studien über Hoden- und Hirnvakzine verwandte. Die Kontrolle so zahlreicher Organimpfungen auf Vakzineerreger wäre mit der Schnitt-Technik nicht möglich gewesen. Seiner jetzt vorliegenden Arbeit werden weitere Studien aus dem Gebiet der Variola-Vakzine-Forschung, die zum Teil nur durch die dankenswerten Unterstützungen von seiten der Notgemeinschaft möglich waren, unmittelbar folgen. v. W.

Mit diesen Methoden haben wir uns seit längerer Zeit eingehend beschäftigt und sowohl über sie selbst einige Erfahrung sammeln als auch mit ihrer Hilfe Studien über das Wesen der Variola-Vakzine-Immunität machen können, über die, soweit sie abgeschlossen sind, hier berichtet werden soll.

I. Orchilapine.

Nachdem bereits 1910 Henseval und Convent vergebens versucht hatten, das Vakzinevirus im Hoden von Kaninchen fortzuzüchten, nahm Noguchi diese Versuche 1915 mit Erfolg wieder auf. Seine Ergebnisse wurden von den verschiedensten Seiten, wie Harde (1915), Condrea (1922), Nodake (1924), Hach, Herzberg (1925), Minervin und Schmerling (1926) u. a., bestätigt. Es wurden zu diesen Experimenten meistens Kaninchen benutzt. Im Hoden von Kälbern vermehrte sich das Virus schlecht (Noguchi), in denen von Meerschweinchen ging die Infektion nur selten (Harde) oder nie (Gins und Krause 1923) an.

Auch wir haben zunächst Meerschweinchen zu unseren Versuchen verwandt. Infiziert wurden die Tiere beiderseits mit je 0,1 ccm der Impfstoffe, die 1:10 mit Kochsalzlösung verdünnt waren. Es handelte sich um einen Eukupinotoxin- und einen Glyzerinimpfstoff aus Schwerin, die beide an der Kaninchenkornea virulent und aerob wie anaerob steril waren. Die Tiere vertrugen die Impfung anstandslos, zeigten nur am folgenden Tage eine geringe Temperaturerhöhung um etwa ½—1 Grad. Keines erlag der Infektion; die Tiere mußten zur weiteren Verarbeitung getötet werden. Die Hoden wurden herausgenommen und mit gleichen Teilen Kochsalzlösung zu einem feinen Brei verrieben. Dieser war bakteriell stets steril. Die Hodenaufschwemmungen wurden auf ihre Virulenz am Kaninchenauge geprüft und sodann mit 0,2 ccm weitere Meerschweinchenhoden-Passagen des Virus angestellt. Zwischen dem 1. und 12. Tage wurden die Tiere getötet. Einen Tag nach der Infektion war das Virus in dem Hoden bereits nicht mehr nachzuweisen, ebensowenig — und das ist wichtiger — innerhalb der nächsten 11 Tage. Meerschweinchen der zweiten und dritten Passage wurden am 4. und 8. Tage untersucht. Ihre Hoden waren gleichfalls nicht virushaltig. Es erübrigt sich wegen dieser völlig negativen Ergebnisse, die Protokolle ausführlich zu bringen. Das Meerschweinchen scheint danach zu Hodeninfektionen mit Vakzine nur wenig oder gar nicht geeignet.

Bei Benutzung von Kaninchen zu entsprechenden Versuchen hatten wir sofort Erfolge. Es ist selbstverständlich, daß man zu diesen Experimenten möglichst sterilen Impfstoff verwendet, sonst gehen die Tiere, wie wiederholt bei den erwähnten Autoren, an Orchitis zugrunde. Noguchi verwandte mit Äther gereinigte Glyzerinlymphe. Wir benutzten sterile Glyzerinlymphen aus Dresden und Schwerin, die noch 1:10 mit physiologischer Kochsalzlösung, z. T. auch mit Normosallösung verdünnt wurden. Davon wurde den Tieren je 0,2 ccm unter aseptischen Kautelen in jeden Hoden gespritzt. Die Tiere zeigten unmittelbar nach der Injektion keinerlei Symptome. Die Hoden schwollen im Laufe der nächsten 3—5 Tage zum Teil stark an, mitunter bildete sich ein blutigseröses virushaltiges

Exsudat unter der Tunica vaginalis. Auch virulentes Bauchhöhlenexsudat fanden wir einige Male. Die Temperatur war meist nur vorübergehend um 1—1½° oder auch weniger erhöht (siehe Protokoll 1). Im übrigen beobachteten wir keinerlei Symptome.

Protokoll I.

	Tage nach der Infektion						
	1	2	3	4	5	6	7
Kaninch. 328	39,1	39,5	41,0	39,4	—	39,6	39,4
„ 327	—	38,6	38,7	—	39,5	40,2	39,2
„ 359	38,6	39,5	39,0	38,5	38,8	—	38,2
„ 401	38,6	39,0	37,9	37,0	36,6	36,7	—

Irgendein Zusammenhang zwischen Temperaturerhöhung, klinischem Verlauf und Virusgehalt des Hodens war nicht zu erkennen. Wir haben mit der Herausnahme der Hoden oft nicht bis zum Eingehen der Tiere, das ohne typische Erscheinungen erfolgte, gewartet, sondern diese zwischen dem 4. und 7., meist am 5. Tage getötet. Wir taten dies deshalb, weil Noguchi angibt, der Virusgehalt der Hoden sei am 4. bis 5. Tage am höchsten, nach dem 7. Tage aber nehme er ab.

Während die eine Hodenpassage von uns durch 48 Tiere hindurchgeführt wurde, brachen wir eine andere bereits nach 5 Tieren ab, weil ihre Virulenz erloschen schien. Vielleicht ist der Grund darin zu suchen, daß wir bei dieser Passage mit einer fünfmal kleineren Infektionsdosis arbeiteten. Eine Virulenzsteigerung hatte jedenfalls hier nicht stattgefunden. In der anderen Hodenpassage hingegen nahm die Virulenz ganz offenbar zu. Immer häufiger gingen hier die Tiere zwischen dem 4. und 7. Tage an einer spezifischen Orchitis ein und brauchten nicht mehr getötet zu werden. Bei Hach (1925) trat der Tod bereits am 3. bis 4. Tage ein.

Die Hoden waren meistens geschwollen und hämorrhagisch, wie es Noguchi, Hach u. a. auch beobachteten. Makroskopisch fanden wir an den Tieren keinerlei anderweitige Veränderungen (mit Ausnahme des schon erwähnten Bauchhöhlenexsudates), auch nicht die von Hach und Noguchi im Hodengewebe beobachteten grauweißen Knötchen. Hach stellte weiter eine Vergrößerung der Milz, Hyperämie der Meningen, nicht selten auch des Gehirnes fest. Mikroskopische Untersuchungen konnten von uns noch nicht gemacht werden; Untersuchungen in dieser Richtung liegen auch sonst nicht vor.

Zur Weiterimpfung wurden die Hoden fein zerschnitten, zerrieben und mit der doppelten Menge 60% Glyzerinkochsalzlösung versetzt, der Brei dann in Ampullen abgefüllt und bei einigen Grad Kälte im Frigo aufbewahrt. Die Virulenzprüfung geschah vor jeder Passage auf der Kaninchenhornhaut. Verschiedentlich wurden die Hodenemulsionen auch nach der Ginsschen Weise an der Meerschweinchenkornea ausgewertet. Es zeigte sich hierbei, daß z. B. der Hodenbrei von Kaninchen 398, einem Anfangstiere einer Reihe, in der Verdünnung 1:100 noch eine deutliche Reaktion gab, während 11 Passagen später (K. 464) die Impfung mit der

Verdünnung 1:1000 zu einer kräftigen, 1:10000 zu einer schwachen Reaktion führte. Ganz offenbar hatte also im Laufe der Passagen eine Anreicherung oder Virulenzsteigerung des Virus stattgefunden. Außer auf Hornhäute wurde die Hodenlapine auch auf Menschen- und Kaninchenhaut sowie in das Kaninchenhirn geimpft.

Es hatte ganz offenbar durch die Hodenpassagen eine Veränderung des Virus stattgefunden, die sich in einer anderen Reaktionsweise der Haut auf das Virus und in einer höheren Infektiosität für Kaninchen bei intratestikulärer Impfung kundgab. Vielleicht beruht sie auf einer Anpassung des Virus an den Kaninchenorganismus, derzufolge es sich nun rasch und stark in seinem Gewebe vermehren kann, wodurch die Hodenbreie der späteren Passagen virulenter als die der ersten sind. Es liegt aber auch der Gedanke nahe, daß es sich um eine Gewöhnung des Virus ganz speziell an das Hodengewebe handle. Dieser Annahme widerspricht jedoch die Beobachtung, daß das Virus der späteren Hodenpassagen auch für die Kaninchen- und Meerschweinchen**kornea**, also ein ganz anderes Gewebe virulenter geworden ist, ja wir an diesem Gewebe die Steigerung durch Auswertung feststellen konnten. So ist also offenbar aus der Vakzine nur eine Lapine geworden, die aber doch mit anderen Eigenschaften ausgestattet ist als eine Neuro- oder Dermolapine. Für diese Anschauung spricht auch folgender Versuch, bei dem für Hodenimpfungen zwei verschiedene Impfstoffe, eine Hirnlapine und eine Vakzine, verwendet wurden, die für die Kaninchenhornhaut eine ganz verschiedene Virulenz hatten.

Je zwei Kaninchen wurde Kälberhaut- und Kaninchenhirnlymphe in denjenigen Verdünnungen intratestikulär eingespritzt, in denen sie an Kaninchenhornhäuten beim Austitrieren eben noch spezifische Erscheinungen hervorriefen. Der dazu verwendete Kälberimpfstoff mußte in der Verdünnung 1:100, der Hirnimpfstoff in der Verdünnung 1:10000 genommen werden. Trotz dieser gleichstarken Infektionsdosen starben die mit Hirn geimpften Tiere nach 8 und 10 Tagen an einer heftigen Orchitis, von den mit Kälberlymphe Infizierten blieb das eine am Leben, das andere starb nach 13 Tagen.

Außer zu Passagen wurden Hodenimpfungen bei uns noch zu verschiedenen anderen Zwecken vorgenommen. In vereinzelten Fällen ging dabei die Impfung nicht an, obwohl der Impfstoff virulent und immer in gleicher Weise behandelt worden war. Da wir immer den Brei aus dem rechten Hoden des alten Tieres in den rechten des neuen impften und ebenso links verfuhren, die Impfungen in solchen Fällen aber stets auf beiden Seiten nicht angingen, so trägt an den Fehlschlägen nicht ein Versagen der Impfstoffe, sondern des Versuchstieres die Schuld. Für Vakzine immune oder schwer empfängliche Tiere sind ja auch von der Hautimpfung her bekannt.

Die Orchilapinen wurden von uns im Frigo aufbewahrt; wir verfügten dadurch für die verschiedensten Pockenversuche stets über bakterienfreies Impfmaterial. Wiederholt bot sich uns die Gelegenheit, die Virulenz solcher alten Impfstoffe auf die verschiedenste Weise zu prüfen. Meist geschah dies an der Kaninchenhornhaut, einige Male auch am Kaninchenhirn und -hoden. Über einige Ergebnisse berichtet das Protokoll II.

Protokoll II.

Hoden-impfstoff von Kaninchen	Geprüft an Kaninchen	Geprüft nach wieviel Tagen	an welchem Organ	Erfolg
458	488	8	Kornea	+
531	581	15	„	+
531	551	20	Hoden	+
688	702	25	Kornea	+
635	702	30	„	+
401	410	31	Hoden	+
398	395	35	Kornea	—
398	399	36	Hirn	+
632	659	58	Kornea	+
628	615	61	Hirn	+
632	639	61	Hoden	—
632	652	72	„	+
491	634	101	Kornea	—
913	999	173	„	+
394	714	229	„	—
394	716	256	Hirn	+
892	999	473	Kornea	—
394	1047	772	„	+

II. Gewinnung und Haltbarkeit von Hirnlapinen.

Auch bei unseren Gehirn-Vakzineimpfungen versuchten wir zunächst Meerschweinchen zu verwenden, obwohl Gins und Krause (1923) bereits über einige erfolglose derartige Versuche berichtet hatten. Den Tieren wurde je 0,01—0,05 ccm von Impfstoffen der verschiedensten Herkunft und Zubereitung ($^1/_{100}$ Rohlymphe, $^1/_5$ Ätherlymphe, $^1/_{10}$ Glyzerinlymphe) möglichst in das Stirnhirn injiziert. Einige dieser Tiere erlagen dem Eingriffe nach wenig Stunden, eine Anzahl (8) wurde nach 1—10 Tagen getötet, und bei 5 Tieren wurde vergebens länger auf ein spontanes Eingehen gewartet. Die Meerschweinchen zeigten ähnlich den intratestikulär geimpften Tieren meist kurz vorübergehende Temperaturerhöhungen, irgendwelche weitere Krankheitserscheinungen aber konnten wir nie beobachten. Die Gehirne wurden steril herausgenommen und mit 2 Teilen 80proz. Glyzerinwassers versetzt. Die Emulsionen wurden auf ihre Virulenz an Kaninchen- und Meerschweinchenaugen geprüft; nie erhielten wir irgendeine Reaktion. Das Virus scheint also bereits nach 24 Stunden aus dem Gehirn verschwunden zu sein, oder es war wenigstens darin nicht mehr nachzuweisen. Es hatte sich aber auch scheinbar nicht im Laufe der nächsten 9 Tage darin vermehrt. Die Prüfung am Meerschweinchenauge geschah, weil das Virus vielleicht an Virulenz für das Kaninchen eingebüßt haben könnte. Auch eine Anreicherung des Virus im Gehirne durch 3 Meerschweinchenpassagen konnten wir nicht feststellen.

Wegen dieser scheinbaren Unmöglichkeit, Vakzinevirus im Meerschweinchengehirn zur Vermehrung zu bringen, brachen wir diese Experimente ab und gebrauchten ferner nur noch Kaninchen.

Hier hatten wir sofort und fast stets mit direkten Gehirninfektionen Erfolge. Wir haben mit dem verschiedensten Ausgangsmaterial, meist 0,1

bis 0,2 ccm und 1:10 verdünntem Material die Tiere im Stirnhirn infiziert (Glyzerinlymphe, Ätherlymphe, Eukupinotoxinlymphe, Kinderlymphe und Hodenlapine). Mit jedem Material gelang die Infektion. Meist war dasselbe bakteriell steril, aber selbst wenn es etwas verunreinigt war, wie es später im Laufe der Passagen mit den Hirnlapinen einige Male der Fall war, so führte das nicht immer zu einer purulenten Meningitis, sondern die Tiere wurden meist mit den banalen Nebenkeimen fertig.

Es muß also gegenüber Levaditi hervorgehoben werden, daß die Gehirninfektion und die Gewinnung einer mit besonderen Eigenschaften ausgestatteten Neurolapine auf Anhieb mit jedem Material gelingen kann. Levaditi hatte gemeint, es müsse allmählich eine Anpassung des Virus an das Kaninchengehirn stattfinden, und hat diese zunächst dadurch zu erreichen versucht, daß er Hirn- und Hodenpassagen sich abwechseln ließ. Manchen Vakzinestämmen sollen aber „neurotrope" Eigenschaften auch so nicht angezüchtet werden können. Auch Gaillardo (1925) ging von Hodenlapine aus. Marie (1920) schaltete zur Erhaltung der Virulenz von Zeit zu Zeit Hodenpassagen ein. Nach den Erfahrungen von Krumbach (1923), Burnet und Conseil (1924), Lucksch (1924), Bachmann und Biglieri (1925), uns (1925) u. a. ist dies also nicht notwendig, selbst eine Anpassung an den Kaninchenorganismus, also nicht nur an das spezielle Organ, scheint sich außerordentlich rasch zu vollziehen. Wie wir, so sah schon Condrea (1922) keinen Unterschied, ob er von Vakzine oder Lapine bei seinen Hirnimpfungen ausging. Bisweilen findet man das Hirn infizierter Tiere scheinbar avirulent, und erst nach 2 bis 3 scheinbar leeren Passagen erhält man mit den Gehirnemulsionen auf Kaninchenhornhäuten spezifische Reaktionen. Bei wichtigeren Versuchen müßte man diese langsame Anreicherung und Anpassung in Rechnung ziehen. Da es dabei gleichgültig ist, ob man von Vakzine oder Lapine ausgegangen war, ist die Erscheinung wohl eher auf die verimpfte Keimzahl, individuelle oder Rassedisposition des Tieres als auf eine allmähliche Anpassung des Virus an das Kaninchen zurückzuführen.

Die Tiere erkrankten nach der Hirninfektion angeblich an einer Enzephalitis (Levaditi). Sie bekommen Fieber, nach Condrea (1922) schon vom zweiten Tage ab. Bei unseren Tieren war nach der zerebralen Injektion Fieber selbst bei Anwesenheit von Virus im Gehirn der Tiere im allgemeinen selten; wenn eine Infektion nicht anging, trat es bei uns nie auf. Im übrigen werden die Krankheitserscheinungen von Condrea, Marie, Levaditi, Herzberg, Wasilewski-Warschau, Gallardo, Walthard, Bachmann und Biglieri u. a. sehr verschieden beschrieben. Wir sahen bisweilen die gleichen Lähmungssymptome, die Condrea, Marie und Krumbach beobachteten. Häufiger war es aber so, daß 1 bis 1½ Tage vor dem Ende die Tiere freßunlustig und apathisch wurden. Bald verschlimmerte sich das Krankheitsbild und unter Krämpfen, Schreien, Zähneknirschen, Atembeschwerden und Opisthotonus starben die Tiere. Die Symptome sind selten alle vorhanden, meist nur ein oder einige. Das Krankheitsbild ist also sehr wechselnd und uncharakteristisch. Oft merkten wir den Tieren kein Kranksein an.

Über die pathologisch-anatomischen Veränderungen läßt sich bis heute noch wenig sagen. Makroskopisch sieht man dem Gehirn meistens nicht sehr viel an. Krumbach, wir und andere bemerkten mitunter Adhäsionen der Hirnhäute, weichere Konsistenz der geimpften Hirnhälfte und flachere Windungen. Mikroskopisch beschrieb Condrea (1923) im Gehirn und der weißen Substanz des Rückenmarkes sowie im Ependym des Wirbelkanals und in abgestoßenen Zellen im Liquor Zelleinschlüsse, die er als Guarnierische Körperchen deutete. Levaditi und Walthard berichten über Infiltrate der Meningen und perivaskuläre Zellanhäufungen im Kortex nahe der Hirnoberfläche, Lucksch (1925) über mäßige Hyperämie und perivaskuläre Rundzelleninfiltration; Guarnierische Körperchen sah er nie.

Zum Anlegen von Gehirnpassagen wurden die Gehirne der verendeten oder getöteten Tiere steril zu einem Brei verarbeitet und meist mit der doppelten Menge 80proz. Glyzerinwassers versetzt, mit dem es sich besser verrieb als mit 1,5proz. Phenolkochsalzlösung. Die Breie wurden stets an Kaninchenhornhäuten, bisweilen außerdem noch in anderer Weise auf ihre Virulenz geprüft und häufig aerob und anaerob auf Nebenkeime untersucht. Impfstoffe, die verunreinigt waren, reinigte der Glyzerinzusatz meist in 1 bis 2 Wochen, falls nicht Sporenbildner vorlagen. Die Neurolapinen setzen sich also aus der eigentlichen Gehirnmasse, den weichen Hirnhäuten sowie Liquor- und Blutresten und dem Virus zusammen.

Die Anzahl der Tage, nach denen die Tiere an der Infektion eingingen, hat bei den einzelnen Autoren außerordentlich geschwankt: nach Lucksch 1—2, Gallardo 4—6, Walthard 5, Marie 5—8, Condrea 4—12, Herzberg 4—11, Krumbach 3—24 Tage und so fort. Wir haben leicht infizierte und erkrankte Tiere scheinbar gesund werden oder wenigstens 4 Wochen lang leben sehen (sodann wurden sie zu anderen Versuchen verwendet). Dabei erwiesen sie sich, soweit sie geprüft wurden, als immun. Ihr Gehirn war in einem von drei Versuchen noch nach 33 Tagen virushaltig. (Kan. 226 infiziert am 26. 7. 24 mit 0,2 ccm der Gehirnemulsion von Kan. 218 verdünnt 1:10000. Keine Symptome. Getötet 28. 8. 24. Gehirn verimpft auf Kornea Kan. 235. 30. 8. 24 Kornea makroskopisch positiv, Guarnierische Körperchen: positiv.) Im allgemeinen haben wir die überlebenden Tiere am 5. bis 7. Tage getötet. Levaditi hat bekanntlich auf eine Verkürzung der Krankheitsdauer im Laufe der Passagen hingewiesen, und Krumbachs Erfahrungen stützten ihn hierin. Wir haben das bisher in einer Passagenreihe von 64 Gliedern (die anderen sind kürzer) nicht beobachten können, vielmehr kam es immer wieder vor, daß wir ein Tier zu Passagezwecken töten mußten. In einer anderen Reihe, die von Kinderlymphe ausging, hatte sich die durchschnittliche Krankheitsdauer sogar verlängert. Gallardos erstes Tier ging 5 Tage nach der Infektion, die späteren 4—6 Tage danach ein. Wasilewski-Warschau bemerkte nichts von der Bildung eines Virus fixe. Unsere 5 verschiedenen Gehirnlapinen haben jedenfalls in dieser Beziehung bisher keine bemerkenswerte Zunahme ihrer Virulenz für das Gehirn gezeigt. In Auswertungsversuchen auf der Haut und im Hirn erhielt Levaditi angeblich noch mit Gehirnverdünnungen von 1:100000 schöne Eruptionen und mit 1:10000000 „spezifische Enzephalitiden“. Wir werteten verschiedene Hirnlapinen an Ka-

ninchen nach Groth und Gins sowie durch intrazerebrale Impfungen aus. Protokoll III gibt über drei derartige Versuche Auskunft.

Protokoll III.

	Groth Bewertungs-Index	Groth Infiltrations-durchmesser	Gins	Intrazerebrale Auswertung
Hirn-Lapine K. 511 (2. Passage)				
1 : 10	+++		+	gestorben nach 6 Tagen
1 : 100	+		+	„ „ 6 „
1 : 1000	+ 17	37,4	+	„ „ 5 „
1 : 10000	+		?	„ „ 8 „
1 : 100000	—		—	lebt
Hirn-Lapine K. 681 (18. Passage				
1 : 10	+++		+	gestorben nach 5 Tagen
1 : 100	++		+	„ „ 4 „
1 : 1000	+ 22	45,1	+	„ „ 7 „
1 : 10000	+		+	„ „ 7 „
1 : 100000	+		—	„ „ 13 „
Hirn-Lapine K. 714 (39. Passage)				
1 : 10	+++		+	„ „ 7 „
1 : 100	+		+	„ „ 5 „
1 : 1000	+ 18	39,9	?	„ „ 5 „
1 : 10000	+		+	„ „ 9 „
1 : 100000	+		—	lebt

Aus den Versuchen geht zunächst einmal hervor, daß unsere Hirnlapine offenbar nicht ganz so virulent war wie diejenige Levaditis, denn die mit den Verdünnungen 1:100000 der Lapinen K. 681 und 714 geimpften Tiere starben erst nach 13 und 9 Tagen. Anscheinend hatte aber der intrazerebralen Auswertung nach eine Zunahme der Virulenz stattgefunden, was sich übrigens in einer Verkürzung der Krankheitsdauer bis zum Eingehen der späteren Passagetiere nicht bemerkbar gemacht hatte. Über Gleiches berichtet Gallardo: Nicht am Krankheitsbilde, sondern an den Ergebnissen bei Auswertungen der Impfstoffe an Haut, Hoden und Gehirn konnte er von der 34. Passage ab eine Zunahme der Virulenz sehen. Weiter geht aus unseren Versuchen hervor, daß die allerdings umständlichere und kostspieligere Virulenzprüfung am Gehirn feinere Ausschläge geben kann als die an Hornhaut oder in der Haut, wie wir es schon bei den Altersprüfungen der Orchilapinen beobachtet hatten. Schließlich fallen die niedrigen Werte nach Groth auf. Der Bewertungsindex ist ja etwas subjektiv, hat aber hier bei vergleichenden Untersuchungen seinen vollen Wert. Beachtenswerter ist der auch relativ geringe Infiltrationsdurchmesser. Es beruht diese Erscheinung wohl darauf, daß die Hirnlapinen ähnlich den Hodenimpfstoffen auf der Haut einen umschriebeneren, aber tiefer greifenden vakzinalen Prozeß hervorriefen als die Kuhpockenimpfstoffe. Auf

diese Unterschiede wird noch später einzugehen sein. Hervorheben möchten wir zu den Virulenzprüfungen der Hirnlapine nach Groth nur noch, daß wir Impfstoffe hatten, die höhere Bewertungsindizes und Infiltrationsdurchmesser hatten, z. B. Kan. 542: 24 und 57,3.

Die Gewinnung von Hirnlapine durch Trepanation und Infektion des Kaninchenhirnes ist für die Tiere nie schmerzlos und das Verfahren etwas umständlich. Eine Sekundärinfektion wie auch eine lebensgefährliche Verletzung sind nie ganz ausgeschlossen. Es wäre deshalb vorteilhaft, wenn man auf eine andere Weise das Kaninchenhirn infizieren könnte. Auf drei Wegen versuchten wir das: durch Zysternen-, Nasen- und Korneainfektionen.

Die Zysternen wurden an durch Morphium unempfindlich gemachten Tieren oder auch ohne Narkose in der von Pette (1925) angegebenen Weise punktiert. Nach Ablassen einiger Tropfen Liquorflüssigkeit wurde 0,05 ccm Hirnlapine, die möglichst von allen gröberen Bestandteilen durch Zentrifugieren befreit war, injiziert. Dem Eingriffe folgten bisweilen vorübergehende Lähmungs- und Krampferscheinungen, meist vertrugen aber die Tiere diese Infektionsart gut. Es erwies sich dieser Infektionsweg als absolut sicher, stets waren die Gehirne der Tiere, wenn sie starben oder wir sie nach 6—7 Tagen töteten, virushaltig. Ein Beispiel einer solchen Versuchsreihe gibt Protokoll IV.

K. 754	14. IX.	0,05 Hirn 1:3 mit NaCl-Lös. verdünnt von K. 728,
	21. IX.	getötet, Hirnbrei auf K. 764 Kornea,
	23. IX.	K. 764 Kornea makroskopisch positiv, G. K. ++
K. 784	2. X.	0,05 ccm Hirn 1:3 NaCl-Lös. von K. 754 subokzip.,
	9. X.	gestorben, Hirnbrei auf Mee. 28 Kornea,
11. X.		Kornea von Mee. 28 makroskopisch positiv, G. K. ++
K. 741	10. X.	0,05 ccm Hirn 1:3 NaCl-Lös. von K. 784 subokzip.
	16. X.	getötet, Hirnbrei auf Mee. 31 Kornea,
	19. X.	Kornea von Mee. 31 makroskopisch positiv, G. K. ++

Wenn wir bei Benutzung dieser Infektionswege natürlich von einem absolut bakterienfreien Impfstoffe ausgehen mußten, so war dies bei den folgenden Versuchen keine Vorbedingung. Dem Kan. 752 wurde am 14. 9. in jedes Nasenloch ein Tropfen Hodenlapine gegeben und der Impfstoff in der Höhle vorsichtig mit einem Tupfer verrieben. Es trat eine geringe Rhinitis auf. Nach 4 Tagen wurde das Nasensekret auf die Kornea von Meerschweinchen 77 geimpft. Guarnierische Körperchen waren im Abschabapparat von dieser Hornhaut nicht zu finden. Das Tier wurde am 7. Tage getötet und das Gehirn an der Kaninchenkornea 765 auf seine Virulenz geprüft. Es war, wenn auch schwach, positiv. Derartige Versuche haben wir siebenmal angestellt. Sie gelangen nicht immer. Bei einem Tiere, K. 785, das nach der Infektion eine starke Rhinitis anscheinend anderer Ätiologie bekam, bildete sich an der Oberlippe eine typische Vakzinepustel. Das Nasensekret war nach 4 Tagen virushaltig. In der Nase selbst haben wir, wenn wir die Tiere am 5. bis 6. Tage töteten, keine Eruptionen beobachten können. Etwa in der Hälfte der Fälle fanden wir nach dieser Impfart die Gehirne lapinevirushaltig.

Der dritte Infektionsweg führte von der Kornea aus in das Gehirn. Wir wiesen (1923) anderenorts in Bestätigung von Hauser und v. Wasielewski (1905) bereits darauf hin, daß entgegen früheren Anschauungen auch von der Kornea aus eine Generalisation des Virus stattfinden kann, wenn nur die Infektion sehr kräftig und der Säfteaustausch ein lebhafterer ist als im allgemeinen normalerweise. Es fiel uns auf, daß einige der Kaninchen, die zu kornealen Virulenzprüfungen verwendet worden waren und heftige Reaktionen gezeigt hatten, etwa 1—2 Wochen später, ohne krank geschienen zu haben, starben. Als wir ihre Gehirne auf Virulenz prüften, stellte es sich heraus, daß sie z. T. infektiös waren. Wir gingen nun zur Gewinnung neuer Hirnlapinen in der folgenden Weise vor: Beide Hornhäute wurden mit dem von v. Wasielewski angegebenen Rechen gitterförmig geritzt und reichlich kräftiger Impfstoff in das verletzte Epithel eingerieben. Nach einer heftigen Keratitis starben die Tiere entweder oder sie wurden am 7. oder 8. Tage getötet und ihre Gehirne zu weiteren solchen Korneapassagen verwendet. Die Gehirne waren allerdings nicht immer infektiös, etwa $1/3$ Versager hatten wir, aber da man bei dieser Methode keine besonderen Tiere als Virulenzkontrolle der Hirnemulsionen braucht, so bedeutet sie immerhin noch eine Ersparnis an Tiermaterial. Ob man freilich bei diesem Verfahren noch von Gehirnpassagen sprechen kann, ist eine andere Frage. Ihre Entscheidung hängt davon ab, ob das Virus sofort nach der Impfung, ohne sich erst in den Korneaepithelien vermehrt zu haben, etwa durch Lymphspalten in das Gehirn gelangt, oder ob es ein „Korneavirus" ist, das sich erst sekundär im Gehirn ansiedelt.

Der Übertritt des Virus von der Kornea, besser sagt man wohl Konjunktivalsack oder Hornhaut, in den Körper, ist unseren Beobachtungen nach nicht zu bezweifeln. Zwar sahen Levaditi, Gins (1926) und Paschen (1926) nie nach kornealer Impfung Tiere unter zerebralen Erscheinungen sterben und Levaditi hat nach kornealer Impfung nie den Lapineerreger in der Gehirnmasse durch Verimpfung nachweisen können, aber dem stehen außer unseren z. B. auch die Beobachtungen von Biglieri sowie Blanc und Caminopetros (1924) entgegen, der alle Tiere nach Neurovariolaimpfung der Kornea eingehen sah, allerdings das Virus nur schwer im Gehirn feststellen konnte. Welchen Weg das Virus dabei verfolgt, steht noch dahin, es kann den der Lymphbahnen wie den der Tränenflüssigkeit nehmen. Für die Generalisation von der Kornea aus sprechen neben diesen und früheren Befunden von uns und anderen Autoren auch die Gehirnimmunität nach kornealer Infektion (siehe S. 263) und vielleicht auch die wiederholt beobachteten Pustelbildungen auf der Zunge der Versuchstiere. Zu einer Erkrankung braucht es auch bei Anwesenheit des Virus im Gehirn nicht zu kommen. Es schließt sich ja selbst an zerebrale Impfung Hautimmunität an, ohne daß klinische Krankheitszeichen beobachtet, also jedenfalls in sichtbarer Form vorhanden gewesen wären. Auch Paschen (1926) hat dies neuerdings beobachtet. Nur Lucksch berichtet über zerebrale und meningitische Symptome nach Hornhautimpfung; doch fehlen gerade bei ihm die Beweise für deren vakzinalen Ursprung.

So kann man also auf die verschiedenste Weise und ausgehend von Kuhpockenmaterial der verschiedensten Herkunft Hirnlapinen gewinnen.

Wie wir noch sehen werden, gelingt es u. a. auch auf allen anderen bekannten Impfwegen, eine Haftung und Vermehrung des Virus im Kaninchengehirn zu erzielen. Doch sind diese anderen Methoden wenig zuverlässig.

Sollten sich die Hirnlapinen zur Impfung von Menschen eignen, so wäre es praktisch wichtig, ihre Haltbarkeit zu erproben. Nach Kamler (1925) und Gonzaler (1926) z. B. soll diese schlecht sein, nach Levaditi sehr gut. Diese Prüfung haben wir mit dem uns zur Verfügung stehenden Material wiederholt angestellt. Von jedem Hirnbrei wurden einige Kapillaren zugeschmolzen im Frigo aufgehoben. Es war leider nicht zu vermeiden, daß sie dort wiederholt auftauten und wieder einfroren, was ihnen wahrscheinlich geschadet hat. Die Virulenzprüfung solcher alten Neurolapinen hatten folgende Ergebnisse (Beispiele):

Protokoll V.

Hirnemulsion von Kaninchen	verimpft auf Kaninchen	Tage nach der Gewinnung	Impferfolge an Kornea	Impferfolge an Gehirn
454	488	8	+[1]	0
198	501	10	—	0
440	459	10	+	0
615	667	12	+	0
615	674	12	0	+
374	406	13	+	0
502	413	19	+	0
404	467	27	+	0
439	475	33	+	0
425	475	39	+	0
628	661	58	+	0
628	615	61	0	+
511	474	84	+	0
628	698	109	—	0
589	698	134	—	0
628	711	149	0	+
911	911	158	+	0
476	700	187	+	0
487	701	196	+	0
495	711	220	+	0
420	700	223	—	0
420	748	236	0	+
799	1049	487	+	0
793	1049	464	+	0

[1]) + = positiv, 0 = nicht geprüft, — = negativ.

So haben sich unsere Hirnimpfstoffe z. T. fast über ein Jahr lang virulent erhalten; worauf die einzelnen Versager beruhen, läßt sich nicht sagen. Einige Auswertungen an der Kaninchenkornea ergaben, daß die Virulenz z. T. erheblich nachgelassen hatte. Auch hier gelang uns wie bei den Hodenemulsionen einige Male der Virusnachweis durch Gehirnimpfung länger als durch Infektion der Hornhaut. Unsere Aufbewahrungsart konnte leider keine ideale sein, das zeigt sich auch daran, daß unsere verschiedenen Kuhpockenimpfstoffe, die in gleicher Weise aufgehoben wurden, nach $1/4$ bis $1/2$ Jahr an Virulenz abnahmen.

III. Vergleiche zwischen Neuro- und Orchilapine sowie Dermo-Vakzine-Virus.

Levaditi hat zu Beginn seiner Arbeiten gemeint, das Lapinevirus erwerbe durch Wachsen im Gehirngewebe neue Eigenschaften, die sich besonders in einer steigenden Affinität zum Gehirn und in einer sinkenden zur Haut oder auch darin zeige, daß es auf der Haut zu andersartigen Eruptionen führe als das Dermovirus. In späteren Arbeiten betont er das letzte besonders. Weiter nimmt er an, daß alle Gewebe, die vom Ektoderm abstammen, also auch das Gehirn, eine besondere Empfänglichkeit für das Pockenvirus haben. Er zählt die Blattern deshalb zu den Ektodermosen, speziell ihrer neurotropen Gruppe. Er ist zu dieser Ansicht auf Grund der Ergebnisse seiner Neurolapineversuche gekommen.

Seine Behauptungen würden in praktischer und theoretischer Beziehung bedeutungsvoll sein, wenn sie zu Recht bestünden. In praktischer Beziehung insofern, als dann für die künstlich mit Kuhpocken, besonders aber mit Neurolapine infizierten Kinder die Gefahr, an einer Enzephalitis, wie es angeblich bei Kaninchen der Fall ist, zu erkranken, nicht von der Hand zu weisen wäre; während vom theoretischen Standpunkte aus die Modifikation des Blatternerregers zu einem Neurovirus zur Frage der Veränderlichkeit der Mikroorganismen und der epidemiologischen Bedeutung dieser Erscheinung neue Beiträge liefern könnte.

Die Frage des Neurotropismus der Vakzine- und speziell der Neurolapineviren haben wir auf verschiedene Weise zu klären versucht und dabei gleichzeitig geprüft, ob sich irgendwelche Unterschiede zwischen Dermo-, Orchi- und Neurovirus finden lassen. Unsere Versuche beschäftigten sich zunächst mit der Verteilung der Viren nach den verschiedenen Infektionsarten über die Organe des Körpers sowie mit Unterschieden in den Ergebnissen bei Hautimpfungen. Schließlich wurde auch das wechselseitige serologische und immunisierende Verhalten der Viren geprüft.

a) Verteilung des Neuro-, Orchi- und Dermovirus im Kaninchenorganismus.

Die Ansicht Levaditis, daß einmal das Variola-Vakzinevirus überhaupt, dann aber besonders das Neurovirus eine Affinität zu den Geweben, die vom Ektoderm abstammen, habe, gründet sich in erster Linie auf seine Beobachtungen, daß intravenös einverleibtes Virus sich fast nur in Organen dieser Abstammung finde. Ausnahmen bildeten Lunge und Leber, die aber wahrscheinlich das Virus nur aus der Blutbahn abfiltriert hatten, Niere und Milz, in denen es sich nur gelegentlich fand, und besonders Hoden und Ovar, wo es fast regelmäßig zu treffen war. Dies erklärt Levaditi mit dem potentiellen, ektodermalen Charakter dieser Organe. Es sind dies also reichlich viele Ausnahmen. Frei waren nur Knochenmark, Lymphdrüsen, Blut und Muskeln.

Unsere Versuche über den Virusgehalt der Organe nach intravenöser Injektion des Infektionsmaterials waren folgende: Es wurde den Tieren je 1 ccm der Verdünnung einer Hoden- oder Hirnaufschwemmung intravenös eingespritzt. Das Kan. 607 wurde mit dem 16., Kan. 738 mit dem 37. Hirnpassagevirus behandelt; Kan. 608 mit dem 19. und Kan. 739 mit

dem 25. Hodenpassagevirus. Als Verdünnung wurde das 100fache derjenigen Menge genommen, die am Kaninchenauge gerade noch zu einer spezifischen Reaktion führte. Der Hodenimpfstoff führte noch in der Verdünnung 1:100000, die Hirnlapine in der Verdünnung 1:1000 bzw. 1:10000 zu einer Keratitis mit Guarnierischen Körperchen im Abschabpräparat. Es wurden deshalb beide Hodenaufschwemmungen in der Verdünnung 1:1000 verwendet, während das Gehirn von Kan. 607 nur 1:10 von Kan. 738 1:100 verdünnt werden konnte. Nach 5 Tagen wurden die Tiere getötet, die zu untersuchenden Organe mit gleichen Teilen 80proz. Glyzerin-Kochsalzlösung fein verrieben und die Breie an Kaninchenhornhäuten auf ihre Virulenz geprüft. Als positiv galt das Ergebnis nur, wenn nicht nur der makroskopische Korneabefund dafür sprach, sondern auch nach 2—5, meist 2 Tagen in Abschabpräparaten Guarnierische Körperchen in großer Anzahl gefunden wurden.

Protokoll VI.

Geprüfte Organe	Kaninchen intravenös vorbehandelt mit			
	Neurolapine		Hodenlapine	
	K. 607	K. 738	K. 608	K. 739
Gehirn	+[1]	—	+	+
Rückenmark	0	—	0	—
Lunge	—	—	—	—
Leber	—	—	—	—
Milz	—	+	—	—
Niere	—	—	+	—
Nebenniere	+	+	+	+
Hoden	+	0	0	0
Ovar	0	+	+	+
Haut	—	+	+	+
Herzmuskel	—	0	—	—

[1]) + = virushaltig, — = nicht virushaltig, 0 = nicht geprüft.

Aus den Ergebnissen des Versuches ist ein Unterschied in der Affinität beider Virusarten nicht zu entnehmen. Bei zwei mit Hodenlapine vorbehandelten Tieren (K. 838 und 837) war die Nebenniere (andere Organe wurden nicht geprüft) nicht virushaltig. Man kann einwenden, daß hier die Verteilung des Virus insofern zu grob erfolge und dadurch Unterschiede schwer hervortreten könnten, als passiv eine große Menge des virulenten Materiales plötzlich in jedes Organ getragen werde.

Wir haben deshalb noch andere Infektionswege gewählt, bei denen von einer örtlich begrenzten Inokulationsstelle aus das Virus relativ langsam und gleichmäßig den ganzen Körper durchseucht. Zunächst prüften wir bei 3 kutan geimpften Tieren die Verteilung des Virus. Es wurden auf etwa handtellergroße Hautflächen ca. 1 cm voneinander entfernte Impfschnitte gesetzt.

Protokoll VII.

Verteilung des Virus im Kaninchenkörper nach kutaner Impfung.

Kaninchen Nr.	Verwendeter Impfstoff	Geprüfte Organe	Tage nach der Infektion	Ergebnis
554	Vakzine	Gehirn	6	—
		Lunge		—
		Leber		—
		Milz		—
		Niere		—
		Nebenniere		+
		Hoden		—
723	„	Hirn	6	—
		Nebenniere		+
492	Hodenlapine 16. Pass.	Gehirn	5	—
		Leber		—
		Milz		+
		Niere		+
		Nebenniere		+
		Hoden		—
836	„	„	6	—
		Nebenniere		—
659	Hirnlapine 36. Pass.	Hirn	6	—
		Niere		—
		Nebenniere		+
		Ovar		—
		Herzmuskel		—
731	Hirnlapine u. Vakzine (gleichzeitig)	Hoden	5	+
		Hirn		—
		Nebenniere		+

Die Organuntersuchungen von 3 weiteren Tieren, die mit Vakzine, Orchilapine und Neurolapine (64. Passage) kutan geimpft waren, verliefen sämtlich negativ.

Das Ergebnis läßt die bekannten Schwierigkeiten des Virusnachweises nach kutaner Impfung erkennen. Huon und Placidi (1924) beobachteten enzephalitische Symptome und fanden Virus im Gehirn der Kaninchen nur nach ausgedehnter Kutanimpfung; Gildemeister (1926) erzielte dasselbe, aber ohne klinische Erscheinungen zu beobachten, bei 5 von 12 Tieren, wenn er Neurolapine verwandte. Mit anderen Impfstoffen gelang ihm der Virusnachweis im Gehirn seltener. In den meisten Organen ließ sich bei uns also nichts finden, auch nie im Gehirn, zu dem mindestens doch das Neurovirus eine besondere Affinität hätte haben sollen. Das Neurovirus, das nach kutaner Impfung auf der Haut gewachsen ist, ist aber schließlich schon die erste Hautgeneration der Neurolapine; es könnte die Affinität zum Gehirn bereits verloren haben. Levaditi meint jedoch, sie bleibe auch bei Hautpassagen erhalten, und Nicolau und Poincloux glauben dassselbe an einem Virus, das auf einem Menschenarm und von da auf das Kaninchen zurückgeimpft wurde, beobachtet zu haben. Bemerkenswert ist noch, daß in diesen Versuchen am häufigsten die Nebennieren positiv gewesen sind. Ob der Virusträger hier nur der ektodermale Anteil, die Rinde ist, wie Levaditi behauptet, wird schwer zu entscheiden sein.

Sodann prüften wir die Virulenz innerer Organe, besonders des Gehirnes nach kornealer Infektion. Eine gewisse Regellosigkeit der Versuche erklärt sich daraus, daß sie der Tierersparnis halber meist nur bei Gelegenheit und auch zu anderen als dem gerade hier besprochenen Zwecke gemacht wurden.

Protokoll VIII.

Verteilung des Virus im Kaninchenkörper nach cornealer Impfung.

Kaninchen Nr.	Verwendeter Impfstoff	Geprüfte Organe	Tage nach der Infektion	Ergebnis
399	Kinderlymphe	Hirn	3	+
767	"	Nebenniere	7	+
716	Vakzine	Hirn	4	—
		Ovar		+
		Nebenniere		+
843	"	"	9	+
817	"	"	9	
843	"	Hirn	9	+
	"	Nebenniere		+
940	"	"	5	+
		Ovar		—
		Hirn		+
479	Hirnlapine	"	6	—
677	"	"	3	+
		Lunge		—
		Leber		—
		Milz		—
		Niere		—
		Nebenniere		+
		Ovar		—
712	"	Hirn	9	+
728	"	"	7	—
747	"	"	6	—
731	"	"	9	+
724	"	"	19	+
756	"	"	6	+
751	"	"	8	—
755	"	"	7	+
757	"	"	6	+
760	"	"	7	+
761	"	"	4	+
764	"	"	7	+
765	"	"	4	—
768	"	Thymus	4	+
575	Hodenlapine	Hirn	7	+
		Nebenniere		+
692	"	Hirn	5	—
		Nebenniere		—

Fortsetzung von Prot. VIII.

Kaninchen Nr.	Verwendeter Impfstoff	Geprüfte Organe	Tage nach der Infektion	Ergebnis
718	Hodenlapine	Hirn	7	+
		Ovar		+
		Niere		+
		Leber		+
		Lunge		+
		Nebenniere		+
		Haut		+
714	,,	Hirn	—	—
		Milz		+
		Niere		+
738	,,	Liquor	5	+
		Hirn		+
734	,,	Liquor	5	+
		Hirn		+
749	Virushaltig. Liquor	,,	5	+
719	Hirn- und Hoden-lapine	,,	5	+
		Hoden		+

Hierbei fällt die Unregelmäßigkeit auf, mit der die verschiedenen Virusarten von der Kornea aus in das uns besonders interessierende Gehirn gelangten. Die Hodenlapinen waren im allgemeinen viel virulenter, und ihre Verimpfung auf die Kornea führte meist zu heftiger Keratitis und auch Konjunktivitis, so daß es dadurch wahrscheinlich zu einer stärkeren Ausbreitung des Virus über den Körper kam als bei Verwendung von Dermovirus. Blanc und Caminopetros (1923) hatten das Gehirn nach kornealer Impfung mit Dermo- wie Neurovirus virulent gefunden.

Als auch hierbei keine besondere Affinität des Neurolapinevirus zum Gehirn hervortrat, versuchten wir, da quantitative Verhältnisse eine Rolle spielen könnten, durch Auswertungsversuche weiter zu kommen. Es wurde der Titer je einer Hirn- und einer Hodenlapine mit 1:1000 und 1:10000 am Meerschweinchenauge bestimmt und mit der zehnfachen Dosis sodann je 3 Kaninchen korneal geimpft. Die Tiere wurden nach 7 Tagen getötet und ihr Gehirn auf Gehalt an Erregern geprüft.

Protokoll IX.

Geimpft mit Hirnlapine $^1/_{1000}$ 36. Passage	Ergebnis der Hirnprüfung	Geimpft mit Orchilapine $^1/_{10000}$ 31. Passage	Ergebnis der Hirnprüfung
Kaninchen 733	+	Kaninchen 736	+
,, 734	—	,, 737	+
,, 735	—	,, 738	—

Aus dem Ergebnis des kleinen Versuches kann man wenigstens soviel entnehmen, daß das Neurovirus nicht häufiger als das Orchivirus in das Gehirn des Kaninchens gelangt.

Die Beobachtung, daß der Vakzineerreger von der Kornea aus mit einer gewissen Regelmäßigkeit das Gehirn infiziert, wobei wir offen lassen, ob dies auf dem Nervenwege geschieht (eine Verimpfung des nervus opticus verlief positiv) veranlaßte uns, zu versuchen, ob mit kräftiger Kornealimpfung sich nicht regelmäßig eine zerebrale Infektion erreichen ließe und ob man nicht auf diese Weise ohne intrakranielle Eingriffe Gehirnviruspassagen machen könne. Über derartige erfolgreiche Versuche haben wir vorn (Protokoll IV) berichtet.

Protokoll X.

Verteilung des Virus im Kaninchenkörper nach Hodenimpfung.

Kaninchen Nr.	Verwendeter Impfstoff	Geprüfte Organe	Tage nach der Infektion	Ergebnis
391	Glyzerin-Vakzine	Hirn Niere	7	+ +
701	Hirnlapine	Hirn Niere Nebenniere Milz	7	— — + +
699	„	Hirn (gereizt)	6	—
708	„	Hirn Haut	5	— —
713	Hodenlapine	Leber Niere Hirn Nebenniere	8	+ + + +
491	„	Hirn	6	—
531	„	Hirn (gereizt) Speichel	7	— —
458	„	Hirn	5	—
401	„	Hirn Niere	4	— —
377	„	Hirn Niere Leber	5	— + —
375	„	Hirn Niere Lunge	5	— — —
359	„	Hirn Niere	23	— —
389	„	Hirn Niere	5	— —
649	„	Hirn Nebenniere	4	+ +
652	„	Hirn Haut	5	+ +

Fortsetzung von Prot. X.

Kaninchen Nr.	Verwendeter Impfstoff	Geprüfte Organe	Tage nach der Infektion	Ergebnis
727	Hodenlapine	Hirn	4	+
		Haut		+
		Leber		—
		Milz		—
		Lunge		—
		Niere		—
		Nebenniere		+
797	„	Nebenniere	7	+
810	„	Gehirn	11	—
812	„	Nebenniere	5	+
827	„	»	5	+
858	„	»	8	+
890	„	»	9	+
892	„	Liquor	6	+
893	„	Nebenniere	8	+
908	„	»	4	+
1009	„	»	8	+
997	„	»	7	+
1028	„	»	7	+

Durch Hodenimpfungen erzielten wir, wie aus Protokoll X hervorgeht, bei Verwendung von Neurolapine bisher keine Hirninfektion, dagegen gelang sie uns mit Kälberlymphe und Orchilapine. Nur einmal haben wir ein Kaninchen auf intraperitonealem Wege infiziert. Es wurden ihm 0,5 ccm Hirnlapine in 5,0 ccm Kochsalzlösung eingespritzt. Nach 6 Tagen wurde das Tier getötet. Das Gehirn war nicht virushaltig. Schließlich haben wir auch noch Versuche gemacht über die Verteilung des Virus nach intrakranieller Impfung über den Körper und sind dabei zu folgenden (Protokoll XI) Ergebnissen gekommen.

Soweit man aus diesen Versuchen Schlüsse ziehen kann, darf man wohl sagen, daß sich ein augenfälliger Unterschied in der Verteilung der Viren verschiedener Herkunft über die Organe nicht ergeben hat. Herzberg (1925) hat ebenfalls dergleichen Versuche gemacht, jedoch nur Neurolapine verwendet, und dabei beobachtet, daß genau wie nach einer intravenösen Infektion auch nach einer zerebralen Impfung das Virus sich vornehmlich in den Organen des Ektoderms vermehrt. Er nennt positiv: Haut, Ovar, Nebenniere, Milz, Leber, Rückenmark, Ischiadikus, künstliches Peritonealexsudat, gereizter Hoden; negativ: Lunge, Blut, ungereizter Hoden. Auch beim besten Willen kann man aus diesen Ergebnissen nicht eine Bevorzugung der Abkömmlinge des äußeren Keimblattes durch das Virus herauslesen.

Protokoll XI.

Verteilung des Virus im Kaninchenkörper nach zerebraler Impfung.

Kaninchen Nr.	Verwendeter Impfstoff	Geprüfte Organe	Tage nach der Infektion	Ergebnis
546	Hirnlapine	Speichel	5	+
171	„	Niere	6	—
681	„	Nebenniere	4	+
		Leber		+
589	„	Leber	5	+
		Ovar		+
586	„	Nebenniere	7	+
		Niere		—
		Lunge		—
		Ovar		—
		Haut		+
		Milz		—
		Leber		—
71	„	Leber	7	—
		Milz		+
799	„	Nebenniere	5	+
923	„	»	7	+
410	Hodenlapine	Hirn	6	+
		Haut		—
		Ovar		—
		Nebenniere		—
747	„	Hirn	7	+
		Haut		+
		Niere		—
		Nebenniere		+
		Milz		—
		Lunge		—
		Ovar		+
		Herzmuskel		—
		Leber		—
722	Hodenlapine	Milz	4	+
		Leber		+

b) Hautimpfungen mit Neuro- und Dermovirus.

Wie erwähnt, legte Levaditi in seinen späteren Arbeiten vor allem Wert auf die Beobachtung, daß eine Neurovirus-Impfung zu einer besonderen Reaktion auf der Haut führe. Bei Menschen allerdings rief Hirnlapine ebenso normale Pustelbildung hervor wie ein Kuhpockenimpfstoff mittlerer Virulenz. Auch Jancou (1922), Nicolau und Poincloux (1924) und Gallardo (1925) berichten über einen absolut normalen Verlauf derartiger Impfungen. Ebenso waren sie bei Kamler (1924) normal, wenn auch milde. Burnet und Conseil (1924) und ähnlich Gonzalez (1926) dagegen sahen vielfach verspätete und atypische Reaktionen. Wenn Levaditi auch nicht beim Menschen zwischen Haut- und Hirnimpfstoff be-

merkenswerte Unterschiede beobachtete, so war das doch bei Kaninchenimpfungen der Fall. Dort waren die Neurolapinepapeln größer und röter, Ödem und Infiltration waren intensiver und tiefgreifender. Diese Papeln bildeten sich, während die Dermolapinepusteln schon genabelt waren und zu vereitern begannen, erst zu Pusteln um. Hatte er stark virulenten Impfstoff verwendet, so konfluierten sie schließlich, und es resultierte ein küraßartiger Panzer, der einer trockenen Nekrose verfiel. Er blieb mitunter einige Wochen bestehen. Guérin sah ganz die gleichen Unterschiede, während Nicolau und Poincloux (1924) von eigenartigen nekrotisierenden, hämorrhagischen Exanthemen sprechen. Den hämorrhagischen Charakter der Eruptionen heben auch Gildemeister (1926) und Paschen (1926) hervor. Camus (1924) erzielte mit Neurolapine nur wenige Effloreszensen. Diese zeigten eine geringe Tendenz zur Abheilung. Daraus schließt er — wenig begründet, wie Roux bemerkt —, daß das Neurovirus ein Mischvirus sei. Mikroskopisch beobachtete Levaditi, daß die Alteration tiefergehend sei und eine Neigung zur eitrigen Entzündung des Bindegewebes zeige.

Wir haben, um zur Klärung dieser Widersprüche beizutragen, qualitative Unterschiede in der Reaktionsweise der Vakzine sowie der Neuro- und Dermolapine am Menschenarm und auf der Kaninchenhaut zu studieren versucht. Ein Versuch am Menschen verlief leider völlig erfolglos, da der Betreffende pockenimmun war. Eine Neurolapinepustel, die sich ein Kollege zufällig an der Lippe zuzog, zeigte einen absolut normalen Verlauf. Bei den Impfungen auf der Kaninchenhaut erzielten wir meist nur Papelbildung, die bisweilen später eintrat als bei Verwendung von Dermolapine oder Vakzine. Die Papeln entwickelten sich nie zu Pusteln, sondern sie blieben und nekrotisierten; die Borken fielen nach etwa 2 bis 3 Wochen ab. Auch mit konzentriertem und hochvirulentem Impfstoff (von Kan. 714 cf. Prot. III) erhielten wir nie Pusteln. Der Unterschied ist auffallend; wir möchten aber doch zunächst noch glauben, daß wir wie Levaditi Pusteln hätten beobachten können, wenn wir einen so virulenten Impfstoff wie er in Händen gehabt hätten.

Nun traten aber auch bei Impfungen des Hahnenkammes zwischen beiden Impfstoffen ähnliche auffallende Unterschiede hervor. Während man nach Levaditi mit Dermolapine dort kräftige Pustelbildung hervorrufen kann, gelingt dies mit Neurolapine nicht. Biglieri (1924) bestätigte das; Blanc und Caminopetros dagegen glauben, es handle sich nur um einen Unterschied, hervorgerufen durch die Keimzahl; nach kräftiger Impfung erhalte man auch mit Neurolapine auf dem Hahnenkamme spezifische, saftige Eruptionen.

Wir impften zwei Hähne, den einen mit Haut- und den anderen mit Hirnimpfstoff und erhielten bei dem ersten noch mit der Verdünnung 1:3000 eine schöne Pustel, bei dem zweiten aber nur durch Verwendung ganz konzentrierten Impfstoffes (1:1) einige kleine, stecknadelkopfgroße Papeln. Dabei war dieser Impfstoff für die Kaninchenkornea hochvirulent. Beruht unsere Beobachtung nicht auf irgendeinem Zufall, z. B. einer geringen Empfänglichkeit des einen verwendeten Hahnes, so können auch wir die von Levaditi beobachtete Eigenart der Neurolapine bestätigen.

Und da wir ja auch auf der Kaninchenhaut gewisse Unterschiede zwischen Neuro-, Orchi- sowie Hautvirus beobachten konnten, so möchten wir doch die Möglichkeit offen lassen, daß sich hier eine Besonderheit des Neurovirus bemerkbar macht. Diese besteht also in einem gewissen Virulenzverlust für die Haut des Kaninchens und des Hahnenkammes. Auch die von einigen Seiten beobachteten mangelhaften Impfergebnisse an den Menschen und die von Biglieri (1924) vom Kalbe beschriebenen sprechen im Sinne einer Virulenzabnahme für die Haut.

d) Serologische Untersuchungen mit Neuro-, Orchi- und Dermovirus.

Wir prüften die antigene Fähigkeit der Virusarten, indem wir je ein Kaninchen dreimal in fünftägigem Abstand mit 0,3, 0,5 und 1,0 ccm einer filtrierten, virulenten Hirn- bzw. Hodenaufschwemmung impften und den Tieren am 14. und 21. Tage Blut entnahmen. Die daraus gewonnenen Sera wurden in folgender Weise auf ihre antivirulente Fähigkeit geprüft. Die Sera, dazu ein Normalserum, wurden 1:5 und 1:10 mit Kochsalzlösung verdünnt, je 0,5 ccm von ihnen mit 0,25 ccm Hirn- und Hodenimpfstoffen, die 1:100 bis 1:100000 verdünnt waren, gemischt und 1 Stunde bei 37° aufbewahrt. Darauf wurden je 0,1 ccm davon Kaninchen intrakutan injiziert. Die Tiere reagierten hierauf in folgender Weise:

Protokoll XII.

Impfstoffverdünnungen	Hodenimpfstoff und					Hirnimpfstoff und					Virulkontr. der Lapine	
	Normalserum 1/5	Hirnserum 1/5	Hirnserum 1/10	Hodenserum 1/5	Hodenserum 1/10	Normalserum 1/5	Hirnserum 1/5	Hirnserum 1/10	Hodenserum 1/5	Hodenserum 1/10	Ho-	Hi-
1 : 100	0[1])	0	0	0	0	+	+	+	+	+	0	0
1 : 1000	+	+	+	+	+	+	?	+	+	+	0	+
1 : 10000	+	—	—	—	—?	+	—	—	—	—	+	+
1 : 100000	+?	—	—	—	—	±?	0	0	0	0	+	?

[1]) 0 = nicht geprüft, + = positives, — = negatives, ? = fragliches Ergebnis bei Virulanzprüfung an der Kaninchenhornhaut.

Ein anderer Versuch wurde mit zwei auf entsprechende Weise gewonnenen Kuhpocken- und Neurolapine-Immunseren angestellt. Die Gehirnemulsion war am Meerschweinchenauge ausgewertet worden und hatte eine Virulenz von 1:10000 ergeben. 0,5 ccm der Serumverdünnungen 1:25 und 1:50 wurden mit je 0,5 ccm dreier verschiedener Impfstoffverdünnungen gemischt und je ½ Stunde lang bei 37° stehen gelassen. Protokoll XIII gibt die Ergebnisse bei Verimpfungen dieser Gemische auf das Meerschweinchenauge wieder.

Protokoll XIII.

Neurolapine	Vakzineserum		Neurolapineserum	
	1 : 25	1 : 50	1 : 25	1 : 50
1 : 100	—	+	+	+
1 : 1000	—	+	—	—
1 : 10000	—	—	—	—

Beide Immunsera, die durch Antigene verschiedener Herkunft gewonnen sind, wirken auf Hirnlapine mit fast gleicher Stärke virulizid; wenigstens kann man aus den geringen Unterschieden auf antigene Verschiedenheiten keine Schlüsse ziehen.

Dieselben Sera benutzten wir auch zu Komplementbindungs- und Präzipitationsversuchen.

Als Antigene wurden zur Komplementablenkung durch Filtrieren und Zentrifugieren von allen größeren Bestandteilen befreite Hirn- und Hodenemulsionen benutzt. In Vorversuchen wurden diejenigen Dosen festgestellt, in denen sie eben noch keine Hemmung der Hämolyse mehr gaben. Diese wurden im Hauptversuch benutzt. Von der Gehirnaufschwemmung war es die Verdünnung 1:80, von der Hodenaufschwemmung 1:10. Die Mengenverhältnisse waren im übrigen dieselben wie bei der Wassermannschen Reaktion mit $\frac{1}{4}$ Dosen; das Komplement wurde 1:10 verdünnt, vom hämolytischen Ambozeptor das Vierfache der im Vorversuch nach 1 Stunde lösenden Dosis genommen.

Protokoll XIV.

	Hirn-antigen	Hoden-antigen	Serum-kontrolle
Neurolapine-Antiserum			
0,1	+++	+/++	—
0,05	++	+	—
0,025	+	—	0
Hodenlapine-Antiserum			
0,1	+++	++	—
0,05	+++	+	—
0,025	++	—	0
Normalserum			
0,1	+	—	—
0,05	—	—	—
Antigenkontrolle	—	—	—

Bei Anstellung der Präzipitationsversuche gingen wir nach der Methode von Tomarkin und Suarez (1917) vor. Wir verdünnten Hirn- und Hodenaufschwemmung 1:100 bzw. 1:1000 (der Titer der Orchilapine war an der Meerschweinchenkornea zehnmal höher als der der Neurolapine) und filtrierten davon die Hälfte sofort, den Rest, nachdem wir ihn eine Stunde lang im Wasserbad von 100° erhitzt hatten, durch Hartfilter.

Protokoll XV.

0,1 ccm	Antigen			
	Hoden (unerhitzt)	Hirn (unerhitzt)	Hoden (erhitzt)	Hirn (erhitzt)
Hodenantiserum	—	?	++	+
Hirnantiserum	—	+	+++	+

Auch in diesen beiden Versuchsreihen läßt sich kein Unterschied in der antigenen Wirkung der beiden Impfstoffe erkennen. Die Behandlung von Tieren mit erhitzten Emulsionen und die Untersuchung derart gewonnener Koktoimmunsera haben wir noch nicht vorgenommen.

e) Immunitätsprüfungen.

Soweit Tiere, nachdem sie im Pockenversuch gewesen waren, überlebten, wurden sie einige Zeit später auf ihre Immunität untersucht. Es handelte sich im wesentlichen um Tiere, an deren Hornhaut Virulenzprüfungen vorgenommen worden waren. Sie wurden, soweit sie nicht Albinos waren, nur auf ihre Gehirnimmunität geprüft, indem ihnen 0,2 ccm 1:3 verdünnter Neuro- oder Orchilapine intrazerebral injiziert wurden.

Protokoll XVI.

Kaninchen Nr.	Corneal immunisiert mit	Intrazerebrale Immunitätsprüfung mit	Nach wieviel Tagen	Das Tier war
427	Vakzine	Neurolapine	33	immun
433	,,	Orchilapine	28	,,
373	Neurolapine	Neurolapine	21	nicht immun
417	,,	,,	24	immun
441	,,	,,	49	,,
367	,,	,,	85	,,
132	,,	,,	138	,,
218	,,	,,	144	nicht immun
422	,,	Orchilapine	17	,, ,,
379	,,	,,	35	immun
418	,,	,,	64	nicht immun
385	,,	,,	72	immun
145	,,	,,	84	nicht immun
364	Orchilapine	Neurolapine	105	immun
432	,,	,,	35	,,
443	,,	,,	77	,,
418	,,	,,	83	,,
435	,,	Orchilapine	22	,,
561	,,	,,	47	nicht immun
311	,,	,,	71	immun
281	,,	,,	101	,,

Beide Impfstoffe immunisieren also gegeneinander; die virulentere Orchilapine durchbricht diese Immunität leichter als die Neurolapine. Zur Ergänzung unserer Versuche sei erwähnt, daß Blanc und Caminopetros (1923) mit Dermovakzine korneal vorbehandelte Tiere zerebral gegen das Neurovirus immun fanden.

Von früher kutan geimpften Tieren standen uns zu Immunitätsprüfungen nur zwei zur Verfügung. Das eine war ein mit Vakzine geimpfter Bock (Kan. 568), der auf eine gleichzeitig vorgenommene Kornea- und Hodenimpfung mit Neurolapine nicht reagierte, und ein Tier, bei dem Orchilapine zu einigen schönen Pusteln geführt hatte und dessen Hornhaut wie Gehirn gegen Neurolapine noch empfindlich waren.

Von früher intrakutan geimpften Tieren wurden die folgenden gleichzeitig auf ihre Haut- und Hirnimmunität geprüft:

Protokoll XVII.

Kaninchen Nr.	Vorbehandelt mit	Nachbehandelt mit	Nach Tagen	Art der Impfung	Erfolg
111	Vakzine	Neurolapine	25	cut.	immun
		Orchilapine		,,	,,
218	Neurolapine	Neurolapine	31	,,	,,
		Orchilapine		,,	,,
		,,		intrakran.	,,
437	Orchilapine	Neurolapine	29	cut.	,,
		Orchilapine		,,	nicht immun
		Neurolapine		intrakran.	immun

Weiter wurden noch zwei Tiere, die Hirn- oder Hodenimpfungen überlebt hatten, auf ihre Immunität geprüft. Es handelte sich um ein Kaninchen, das mit 0,2 ccm 1:100000 Neurolapine (Endtiter an der Kaninchenkornea) intrakraniell vorbehandelt war und kutan weder gegen Neuro- noch Orchilapine immun war. Sodann wurde ein in gleicher Weise vorbehandeltes Tier geprüft, das noch auf eine Hodenimpfung mit $^1/_{10}$ Hirnlapine reagierte. Und schließlich zeigte sich ein kastriertes Hodenpassagetier gegenüber einer 24 Tage später vorgenommenen intrakraniellen Impfung mit Neurolapine immun.

Bei den ersten Tieren war wahrscheinlich die Infektion nicht angegangen; Krankheitserscheinungen hatten sie nicht gezeigt. Ob sie eine „infection inapparente" überstanden und eine lokale Immunität erworben haben, könnten nur intraktanielle Nachimpfungen mit größeren Lapinedosen entscheiden.

Die beiden mit Neuro- und Dermolapine behandelten Hähne wurden 29 bzw. 32 Tage später auf der anderen Kammseite nachgeimpft, und zwar der mit Hirnimpfstoff vorbehandelte Hahn mit Dermovirus, der andere mit Neurovirus. Die Impfungen gingen nicht an.

Wir haben also bei den verschiedensten Versuchsanordnungen keine Unterschiede in Art und Stärke der immunisierenden Wirkung des Haut-, Hirn- und Hodenvirus beobachten können.

Je nach der Art des Impfortes und der Stärke der Vor- und Nachbehandlung erkennt man auch, daß Immunität nicht ein Zustand des ganzen Körpers zu sein braucht, daß die einzelnen Organe, wie schon die angebliche Sonderstellung der Kornea zeigte, an ihr einen ganz verschiedenen Anteil haben können und daß der humoralen Vakzineimmunität nur eine sekundäre Bedeutung zukommen kann.

f) Sonstige Tierversuche mit Neurolapine.

Levaditi hat die Empfindlichkeit der verschiedenen Tierarten gegenüber der Neurolapine festzustellen versucht und dabei folgendes gefunden. Bei Meerschweinchen und Katzen ging eine intrakranielle Infektion an,

bei Hähnen und Affen nicht. Hautimpfungen gelangen bei Ratten, Mäusen, Kälbern, Hähnen und Affen, dagegen nicht bei Katzen. Neurolapine ergab am Kalbe eine geringere Impfstoffernte als die gewöhnliche Dermovakzine. Levaditi hatte aber die benutzten Impfstoffe nicht ausgewertet, er war also nicht berechtigt, diese Unterschiede auf Eigenschaften der Lymphe zurückzuführen. Doch berichten auch Guérin und Camus über einen geringeren Impfstoffertrag bei Verwendung von Neurolapine am Kalbe.

Beachtenswert erscheinen vor allem die Unterschiede in der Empfindlichkeit von Haut und Hirn bei Affen und Katze. Eine Fehlerquelle bei Levaditis Katzenversuch liegt allerdings in der verschiedenen Dosierung des Infektionsmaterials: Einerseits wurden in das Gehirn 0,2 ccm injiziert, andererseits eine zweifelhafte, sicher aber viel kleinere Menge in die geritzte Haut eingerieben. Eine von uns mit der gleichen Dosis am 18. 2. 25 zerebral geimpfte Katze war am 27. 2. vorübergehend freßunlustig; ihr Speichel war am 28. 2. bei Prüfung an einer Kaninchenhornhaut nicht virushaltig. Mitte März wurde sie unruhig, schrie viel und wurde schließlich am 23. 3. getötet. Mit Brei aus ihrem Gehirne und ihren Nebennieren konnte an den Hornhäuten von Kan. 578 keine spezifische Keratitis hervorgerufen werden. So scheint dieses Katzengehirn nicht oder wenigstens nicht leicht infizierbar gewesen zu sein. Histologisch haben wir es nicht untersucht. Levaditi (1923) sah mikroskopisch die Zeichen einer Meningitis und kortikalen Enzephalitis, besonders auch Neurophagie. Dieser Befund, den er nur bei dieser Tierart und nur bei diesem einen Tiere hat, ist ihm eine Stütze für seine Behauptung von der sehr nahen Beziehung zwischen den Viren der Pocken und der Herpes-Enzephalitisgruppe, wo ähnliche Neurophagie gefunden wurde.

Weiter ist bemerkenswert, daß bei Levaditi die Affen für Neurolapine nur bei Haut-, nicht aber bei Hirnimpfungen empfänglich waren, sich also von einem Neurotropismus bei ihnen nichts zeigte. Dasselbe war bei Hähnen der Fall. Nur durch Kammimpfungen, nicht durch intrakranielle Injektionen konnte Levaditi bei diesen Tieren spezifische Erkrankungen hervorrufen. Auf dem Kamme freilich reagierte das Dermovirus viel kräftiger als das Neurovirus. Auswertungen des Impfmateriales hat Levaditi auch hier nicht gemacht, so daß der Einwand, den Blanc und Caminopetros erhoben, er habe mit ganz verschiedenen Keimzahlen gearbeitet, nahe lag. 1923 hat Levaditi dann die zu einem solchen Versuche verwendeten Impfstoffe nach der Methode von Calmette und Guérin an der Kaninchenhornhaut ausgewertet und mit Dermolapine, die dort noch in der Verdünnung 1:1 Million eine fast konfluierende Eruption gegeben haben soll (ein Impfstoff von einer Virulenz, wie man ihn wohl nur ganz selten erhält) auf dem Hahnenkamme eine schöne Reaktion erzielt. Hingegen versagte eine Neurolapine, die auf der Kaninchenhaut in der Verdünnung 1:500000 10 Pusteln und 1:10000000 11 Pusteln ergeben hatte. (Ein auffallendes Ergebnis, das nicht für die Zuverlässigkeit der Methode spricht.) Bei massiver Impfung gelang Blanc und Caminopetros die Hahnenkammimpfung auch mit Neurovirus.

Zweierlei ist auffallend: Einmal, daß dasselbe Gewebe bei den einzelnen Tierarten so verschieden empfänglich ist, obwohl die biochemischen

Verhältnisse der gleichen Gewebe bei verschiedenen Tierarten sich noch relativ am ähnlichsten sein müßten — ein Umstand, auf dem vielleicht die weitverbreitete Empfänglichkeit der Hornhaut beruht. — Als zweites ist bemerkenswert, daß der angebliche Neurotropismus sich nur auf das Kaninchen beschränkt, obwohl man doch erwarten müßte, daß diese Organspezifität die Grenzen der Art in solchen Fällen besonders leicht überschreitet oder nicht kennt, wo bei den betreffenden Tieren Kornea und Haut selbst für ein nicht speziell organotropes Virus gleich voll empfänglich sind. Entgegen diesen Erwartungen zeigten sich in Levaditis Versuchen Haut und Gehirn ganz verschieden und regellos empfänglich; ein allgemeiner Neurotropismus der Hirnlapine trat absolut nicht hervor.

Immerhin schien uns die Frage so wichtig, daß wir ihr noch einige Versuche widmeten, zumal sie ja eine praktische Bedeutung gewinnt, sobald man Hirnlapine zu Menschenimpfungen verwenden will. Um zu entscheiden, ob der Neurotropismus ein allgemeiner ist, d. h. auch bei anderen Tieren als Kaninchen in Erscheinung tritt, haben wir Mäuse und Meerschweinchen auf verschiedenen Wegen mit Neurolapine infiziert und später untersucht, ob das Virus vom Infektionsorte aus einem Tropismus folgend in das Gehirn gelangt sei, sich also in demjenigen Gewebe besonders vermehrt habe, ja zu dem es als Virus einer neurotropen Ektodermose auch ohnedies eine besondere Neigung haben soll.

Protokoll XVIII.

Maus Nr.	intraper. geimpft mit 0,1	Gehirnvirulenzprüfung nach	Ergebnis
1	Neuroalpine	4 Tagen	—
2	,,	6 ,,	—
3	,,	9 ,,	+
4	,,	12 ,,	—
5	,,	14 ,,	—
6	,,	18 ,,	—
7	Orchilapine	6 ,,	+
8	,,	9 ,,	—
9	,,	12 ,,	—

Protokoll XIX.

Meerschw. Nr.	Infiziert mit Neurolapine Dosis	Weg	Gehirnvirulenzprüfung nach	Ergebnis
24	0,02 1 : 1	intrakran.	7 Tagen	—
25	0,01 1 : 1	,,	8 ,,	+
821	1,0 1 : 2	intraperit.	8 ,,	—
,,	,, ,,	,,	8 ,,	—
28	—	cutan	8 ,,	—
29	—	,,	8 ,,	—

Aus den vorstehenden Protokollen geht hervor, daß das Gehirn der Mäuse sowohl für das Gehirn- wie das Hodenlapinevirus empfänglich ist, freilich anscheinend nur schwach, eine Infektion des Meerschweinchengehirnes bisher aber nur mittels direkter intrakranieller Infektion gelang.

Wir hatten, wie anfangs erwähnt, Meerschweinchen zerebral mit Kuhpocken- oder Menschenlymphe nicht infizieren können; da wir jetzt bei

Verwendung von Neurolapine einen Erfolg hatten, wiederholten wir die intrakraniellen Infektionen bei vier Tieren, die wir gleichfalls nach acht Tagen töteten; aber ihr Gehirn schien nie Virus zu enthalten (Protokoll 20). Wir müssen also es zunächst offen lassen, ob der Befund bei Meerschweinchen 25 ein Zufall war.

Worauf es auch beruhen mag, das Wesentliche an diesen Versuchen ist, daß bei Meerschweinchen und Mäusen eine Gehirnaffinität des Lapinevirus nicht besonders in Erscheinung tritt.

Protokoll XX.

Meerschw. Nr.	Geimpft intrakran. mit 0,1	Virulenzprüfung der Gehirnemulsion	
		nach Tagen	Erfolg
34	Neurolapine	8	–
35	„	8	–
36	Orchilapine	8	–
37	„	8	–

Es ist sicher, daß uns für ein Verständnis der Krankheitsbilder und der Immunitätserscheinungen sowie für eine Therapie, die auf Ort und Art der Wechselwirkung zwischen Virus und Wirt abgestimmt ist, sehr erwünscht wäre, nähere Einblicke in den Zelltropismus gewisser Viren und in die Virusaffinität bestimmter Zellen zu erhalten. Die Affinität des Pockenerregers zu den Abkömmlingen des Ektoderms und besonders der Neurotropismus des im Gehirne des Kaninchens gewachsenen Pockenvirus sind aber, so müssen wir auf Grund unserer Versuchsergebnisse sagen, bis heute noch keineswegs einwandfrei bewiesene Tatsachen. Es scheint uns also ungerechtfertigt, auf dieser unsicheren Basis bereits heute weiterbauen oder gar irgendwelche praktische Folgerungen aus ihr ziehen zu wollen. Denn wir glauben folgendes gefunden zu haben:

1. Es besteht weder eine besondere Neigung des Vakzine- oder Lapineerregers, sich im Gehirn anzusiedeln, noch eine besondere Empfindlichkeit des Zentralnervensystems gegenüber dem Pockenvirus,

2. das Virus einer Neurolapine verhält isch in dieser Beziehung nicht anders als das einer Orchilapine oder eines Hautimpfstoffes.

Freilich kann man unter Umständen nach jeder Art der Infektion das Gehirn der Kaninchen virulent finden. Als Blanc und Caminopetros (1924) darauf hinwiesen, bemerkten sie gleichzeitig, daß diese durch den Virusbefund festgestellte „Enzephalitis" sehr häufig gutartig sei und sich nur in einer Temperaturerhöhung auf bis 41° zu manifestieren brauche. Wie häufig fehlt aber bei Tieren mit virulentem Gehirne jegliche Temperatursteigerung! Nun brauchte aber die Temperaturerhöhung nicht durch die Enzephalitis, sondern könnte natürlich ebensogut durch eine sonstige vakzinale Schädigung anderer Organe hervorgerufen sein. Und wenn jegliche klinischen Symptome fehlen, keine pathologisch-anatomischen Veränderungen vorliegen, so kann man auch aus einem gelungenen Virusnachweis im Gehirn noch nicht ohne weiteres schließen, wie es z. B. Blanc und Caminopetros tun, daß das Fieber der Ausdruck eines Entzündungsprozesses im Gehirn sei. Und wenn das Neurolapine-

virus auch auf der Haut von Kaninchen und auf dem Hahnenkamme eine besondere Reaktionsweise zeigt (auch unsere Versuchsergebnisse scheinen ja dafür zu sprechen), und wenn es auch beim Kaninchen einen ausgesprocheneren Neurotropismus haben sollte, als wir ihn beobachten konnten, so offenbaren sich diese neuen Eigenschaften zunächst nur am Kaninchen. Andere Tiere verhalten sich nachweislich ganz anders. Und was schließlich den Menschen anbelangt, so sind einfache Rückschlüsse aus Tierversuchen auf ihn sehr gewagt, entscheidende Versuche an ihm aber nicht möglich. Die Experimente Levaditis beweisen ebensowenig wie die alte Erfahrung, daß die für unsere klinische Blatterndiagnose wichtigsten Krankheitserscheinungen sich auf der Haut abspielen, daß die Pocken eine neurotrope Ektodermose seien. Wir möchten den Begriff deshalb zunächst noch ablehnen, wie es z. B. auch le Fièvre de Arric (1925) tut, der statt von Ektodermotropismus von Zytotropismus spricht. Dieser Zytotropismus wird durch die Arbeiten von Ledingham (1924/25) näher festgelegt. Auf Grund seiner histologischen Untersuchungen kam er zu der Überzeugung, daß nach verschiedensten Arten der Infektion des Kaninchens primär immer nur Läsionen des Retikulo-Endothelialsystems entstehen und nur sekundär das Epithel befallen sein kann. Ledingham lehnt deshalb die Behauptung Levaditis von der Affinität des Vakzinevirus für das Epithel ab.

Es ist unbedingt notwendig, mit einer Charakterisierung des Pockenvirus als neurotrop vorsichtig zu sein, will man nicht lediglich auf Grund theoretischer Annahmen und heute noch unzureichender tierexperimenteller Studien praktischen Schaden stiften. Schon die Diskussion dieser Frage kann dazu verführen, und hat es anscheinend auch getan, gewisse Erkrankungen in Zusammenhang mit der Schutzpockenimpfung zu bringen und damit deren Durchführung zu gefährden.

So ist die Ansicht von Beziehungen zwischen Schutzpockenimpfung und Paralyse wieder aufgetaucht (Daraskiewicz, Salomon, Kolb). Ein sicher nachgewiesener Neurotropismus des Vakzinevirus würde derartige Beziehungen möglich erscheinen lassen. Die Beobachtungen sind außerordentlich vieldeutig und wir verweisen darüber auf das Referat von Winkler in dem Zentralblatt für die ges. Kinderheilkunde XX, S. 1.

Sodann hat man in den letzten Jahren gewisse enzephalitische und meningitische Erkrankungen, die im Anschluß an die Schutzpockenimpfung auftraten, mit der Vakzination in Verbindung gebracht und sogar bereits direkt von einer ,,Vaccineencephalitis" (Lucksch) gesprochen. Es seien hier nur die Veröffentlichungen darüber von van Bouwdijk-Bastiaanse, Lucksch, Prakken, Brouwer (1926), Kraus und Takaki, Blanc und Caminopetros, Levaditi und Nicolau (1926), Leiner, Winkler, Turbull und McIntosh, Gildemeister und Herzberg, Walthard, Frommel und Baumgartner, Fiedler, Kollár, Winnicott und Gibbs (1926), Glanzmann, Gioseffi, Levaditi, Nicolau und Bayerri (1927) erwähnt. Diese Frage ist auch auf der Konferenz über Impffragen am 10. 1. 1925 im Eidgenössischen Gesundheitsamt in Bern und auf der Tagung der Vorstände der deutschen staatlichen Impfanstalten 1925 in Darmstadt besprochen worden. Wieweit man berechtigt ist,

von einer Vakzineenzephalitis zu sprechen, ist heute noch ungeklärt. Für die vakzinale Natur der Erkrankungen stehen pathologisch-anatomische und mikrobiologische Beweise noch aus. Erst neuerdings glauben in England Turnbull und McIntosh, daß es ihnen in 2 Fällen gelungen ist, bei Kindern, die an Enzephalo-Myelitis im Anschluß an Vakzinationen gestorben waren, das Vakzinevirus im Gehirn nachzuweisen. Für dessen ätiologische Bedeutung ist das natürlich noch kein Beweis. Immerhin wäre der gelungene Virusnachweis etwas Neues; ihn nur durch Kaninchenhautimpfung erbringen zu wollen, dürfte aber nicht einwandfrei sein. Experimentell zeigte sich dieses Virus nicht besonders neurotrop. Im allgemeinen glaubt man, daß, wenn ein Zusammenhang besteht, er kein direkter sein kann.

So hat das Studium der angeblichen Neurotropie des Vakzinevirus heute eine hohe praktische Bedeutung gewonnen. Es kommt hinzu, daß uns die Züchtung des Lapinevirus im Kaninchengehirn gestattet, ohne Schwierigkeiten einen Impfstoff in großen Mengen zu gewinnen, der völlig bakterienfrei ist und dadurch wesentliche Vorzüge vor den üblichen Lymphen hat. Wäre dieser Gehirnstoff allgemein neurotrop, so hätte natürlich seine Verwendung am Menschen zu unterbleiben. Nach unseren Tierversuchen scheint er es aber nicht zu sein und weder die Franzosen noch Kamler, Gonzalez oder besonders Gallardo, der schon etwa 1,5 Millionen Portionen Neurolapine ausgab, haben beim Menschen irgendwelche zerebralen oder meningitischen Symptome beobachtet. Die Praxis spricht also gegen den allgemeinen Neurotropismus dieser „Neurolapine", so daß einer allgemeinen Verwendung dieses bakteriell sterilen Impfstoffes nichts im Wege stehen würde, wenn auch sonst sicher stände, daß durch andere sekundäre Infektionen des Kaninchens für die Impflinge nicht neue Gefahren entstehen.

Schriftnachweis.

Bachmann, A., und Biglieri, R., Rev. de inst. bacteriol. 4, 1925, S. 142.
Biglieri, R., Cpt. rend. de la soc. de Biol. 1924, 91, S. 323.
Blanc, G., et Caminopetros, J., Schweiz. med. Wschr. 1926, 6, S. 131.
— —, Arch. de l'Inst. Pasteur Hellénique, 1924, S. 179.
Blum, P., und Bouttier, L., Bull. méd., Jg. 39, Nr. 42, S. 1115, 1925.
van Bouwdijk-Bastiaanse, Bull. de l'Acad. de méd., Bd. 94, Nr. 29, 1925.
—, Nederlandsch tijdschr. v. geneesk., Jg. 69, I. Hälfte, Nr. 11, S. 1194.
Brouwer, Nederlandsch tijdschr. v. geneesk., Jg. 69, S. 2773, 1925.
Burnet, Et., und Conseil, E., Arch. Inst. Past. de Tunis, 13, S. 165, 1924.
— —, Cpt. rend. de la soc. de biol. 90, S. 1408, 1924.
Calmette und Guérin, Ann. de l'inst. Past. 1901.
Condrea, P., Cpt. rend. de la soc. de biol. 86, S. 895, 1922.
—, Cpt. rend. de la soc. de biol. 86, S. 897, 1922.
—, Cpt. rend. de la soc. de biol. 86, S. 899, 1922.
Daraskiewicz, L., Allg. Ztschr. f. Psychiatrie u. psych.-gerichtl. Mediz., Bd. 83, Heft 1 und 2, S. 51, 1925.
Fiedler, El., Ztschr. f. Kinderheilk. 42, Heft 3 bis 4, S. 363, 1926.
Frommel, Ed., und Baumgartner, J., Schweiz. med. Wschr. 35, S. 857, 1926.
Gaillardo, Ann. de l'inst. Pasteur, Bd. 39, S. 543, 1925.
Gildemeister, E., Arb. a. d. Reichsgesundheitsamt, 57 S. 290, 1926.
Gins, H. A., und Krause, C., Ztschr. f. Hyg., 100, S. 155, 1923.
Glanzmann, E., Schweiz. med. Wschr. 1927, Nr. 7.
Gioseffi, Ztschr. f. Kinderhlk. 1927, Bd. 34, Heft 3.

Gonzalez, P., Cpt. rend. de la soc. de biol. 95, S. 274, 1926.
Guérin, Ann. de l'inst. Past. 1905, S. 318.
Hach, J. W., Cbl. f. Bakt. Orig. 94, S. 270, 1925.
—, Ztschr. f. Hyg. 104, Heft 4, S. 569, 1925.
Harde, E. S., Cpt. rend. de la soc. de biol. 78, S. 545, 1915.
—, Ann. Pasteur, Nr. 7, S. 299, 1916.
Herzberg, E., Arb. a. d. Reichsgesundheitsamt, 57, S. 725, 1926.
Huon und Placidi, Cpt. rend. de la soc. de biol. 91, 1924.
Jancou, A., Cpt. rend. de la soc. de biol. 86, S. 910, 1922.
Kamler, A., Pedjatrja polska, 4, S. 7, 1924, ref. Zbl. f. d. ges. Kinderheilk. 1925, 18 S., 51.
Kramer, P. H., Geneesk. gids., Jg. 3, S. 1142, 1925, ref. Zbl. f. d. ges. Hyg. 1926, 12, S. 673.
Kolb, Allg. Ztschr. f. Psych. u. psych.-gerichtl. Mediz. 84, S. 275, 1926.
Kollár, J., Monatsschr. f. Kinderheilk. 34, S. 51, 1926.
Kraus, R., und Takaki, J., Med. Klin., S. 1872, 1925.
Krumbach, H., Ztschr. f. Imm. Forsch. 38, S. 1, 1923.
Ledingham, J. C. G., Brit. journ. of exp. pathol. 5, S. 332, 1924.
—, Journ. of State Med. 1925, 34, Nr. 3.
Leiner, C., Med. Klin., S. 441, 1926.
—, Wien. klin. Wschr., Nr. 51, 1926.
Levaditi, C., und Nicolau, S., Ann. de l'inst. Pasteur 37, S. 1, 1923.
Levaditi, C., Journ. of state acad. 32, S. 151, 1924.
Levaditi und Nicolau, Presse méd. 1926, S. 102.
— —, Cpt. rend. de la soc. de biol. 94, S. 114, 1926.
— — und V. Sanchio Bayerri, Presse méd. 1927, Nr. 11.
Lucksch, Fr., Med. Klin. Nr 34, S. 1170, 1924.
—, Med. Klin. Nr. 37, S. 1377, 1925.
—, Cbl. f. Bakt. 96, S. 309, 1925.
—, D. Ztschr. f. d. ges. gerichtl. Med. 7, S. 203, 1926.
Marie, Cpt. rend. de la soc. de biol. 83, p. 476, 1920.
Minervin, S., und Schmerling, A., Cbl. f. Bakt. Orig. 94, S. 558, 1926.
Nicolau und Poincloux, Cpt. rend. de la soc. de biol. 91, S. 1239, 1924.
Nodake, R., Ztschr. f. Imm. Forschg. 41, S. 52, 1924.
Noguchi, H., Journ. of exp. med. 21, S. 549, 1915.
—, Journ. of exp. med. 27, S. 425, 1918.
Paschen, Beiheft 16 z. Reichsgesundheitsblatt 1926, S. 387.
Prakken, J. R., Nederlandsch tijdschr. v. geneesk., Jg. 69, I. Hälfte Nr. 18, S. 2018, 1925.
Salomon, H., D. med. Wschr. Nr. 46, S. 1897, 1925.
Turnbull, H. M., und Mc Intosh, J., Brit. journ. of exp. pathol. 7, S. 181, 1926.
Walthard, B., Schw. med. Wschr. 35, S. 854, 1926.
v. Wasielewski, Th. M. m. W. 1905, Nr. 25.
—, Zbl. f. d. ges. Hyg., XII, S. 916, 1926.
Wasilewski, A., Pedjatrja polska, 4 ,S. 1, 1924, ref. Zbl. f. d. ges. Kinderheilk. 18, S. 51, 1925.
Winkler, W. F., Vortrag, ref. Münch. med. Wschr. 1925, S. 1710.
—, Ztbl. f. d. ges. Kinderheilk. XX, S. 1, 1926.
—, Ergebn. d. Allg. Pathol. v. Lubarsch-Joest, XXI. Jg., S. 45, 1925.
—, D. med. Wschr. 12, 1926.
Winnicott, D. M., und Gibbs, N., Brit. journ. of childr. dis. 23, S. 107, 1926.
Versammlung der Vereinigung der Vorstände der deutschen staatl. Impfanstalten in Darmstadt am 28. und 29. 9. 1925; ref. Zbl. f. d. ges. Hygiene 12, S. 904, 1926.
Konferenz über Impffragen vom 10. 1. 1925 im eidgenössischen Gesundheitsamt in Bern. Beilage zur ,,Bulletin des eidgenössischen Gesundheitsamtes" 1925, Nr. 40.

Der Milzbrandbazillus, seine Kreislaufformen und Varietäten.

Von

Dr. med. **Friedr. Erh. Haag,**

Assistent am Institut.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Würzburg. Vorstand: Geh. Rat Prof. Dr. K. B. Lehmann.)

(Bei der Redaktion eingegangen am 24. Mai 1927.)

Der Stoff gliedert sich folgendermaßen: Seite

Anmerkung: Um ein großes Literaturverzeichnis zu umgehen, sind die Literaturangaben in den Text hinter den Autor aufgenommen. Der Übersichtlichkeit halber sind die Bezeichnungen möglichst kurz gewählt: O. = Centralblatt für Bakteriologie, 1. Abteilung, Originale; R. = dasselbe, Referate; L. = dasselbe, 2. Abteilung; A. H. = Archiv für Hygiene; Z. H. = Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten; M. m. W. = Münchner medizinische Wochenschrift; D. m. W. = Deutsche medizinische Wochenschrift; A. P. = Annales de l'Institut Pasteur; A. G. A. = Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt.

Vollständige Verzeichnisse über die Variabilität der Bakterien finden sich bei Ph. Eisenberg, Weichardts Ergebnisse, Band 1. 1914; und bei F. Löhnis, Life cycles of the bacteria, Washington 1921; Memoirs National Academy XVI, 2; über die Milzbrandliteratur: Kolle-Wassermann 1911 (ältere Literatur), Kolle-Kraus-Uhlenhuth etwa 1928 (neuere Literatur).

I. Die Geschichte der Veränderlichkeit der Bakterien.

Als Robert Koch im Jahre 1876 in seiner hervorragenden Arbeit über den Erreger des Milzbrands die Entwicklung der vegetativen Formen aus der Endospore verfolgte, warf er auch die Frage auf, welche Gründe für die lange Erhaltungsfähigkeit des Milzbrandbazillus vorliegen könnten. Theoretisch glaubte er, daß zwei Möglichkeiten in Frage kommen: 1. Generationswechsel und 2. Sporenbildung. Er entschied sich für die zweite Möglichkeit, weil er diese zu studieren Gelegenheit hatte, ließ aber dabei außer Acht, daß ein Generationswechsel neben der Endosporenbildung vorliegen könnte.

Tatsachen für einen Generationswechsel waren aber längst gegeben. Die Zeit vor Robert Koch hatte ihn eifrig studiert, aber ausschließlich unter Verfolgung der Vorgänge im Mikroskop. Durch den großen Aufschwung der bakteriologischen Methodik infolge der Einführung fester Nährböden wurden aber jene Beobachtungen für ungültig erklärt, weil ihnen das Kriterium der Reinheit mangelte. Die Einführung einer aufs genaueste abgestimmten Nährbodenmethodik brachte die Bakteriologie nach der diagnostischen Seite hin außerordentlich vorwärts. Nach der botanischen Seite aber fehlte jede Anregung. Die bakteriologische Forschung macht in ihrer geschichtlichen Entwicklung eine ähnliche Wandlung durch, wie sie vor allem die Zoologie gehabt hat. Der Entwicklungsgedanke war in der Zoologie seit langem lebendig, aber Linnés Machtspruch: „Tot sunt species quot diversas formas ab initio produxit infinitum Ens" machte die Anhänger des Entwicklungsgedankens verstummen. Als man damals die Reste von Organismen früherer Zeitepochen ausgrub, wurden sie — wie die abnormen Bakterienformen — als Spiel der Natur, als teratologische Formen angesprochen. Erst später eröffnete sich die große Bedeutung dieser Funde; man erkannte die stammesgeschichtliche Entwicklung und die Kreisläufe in der Zoologie und Botanik, so daß viele Spezies als Subspezies und Formae bezeichnet werden mußten, weil sie sich nunmehr als gelegentliche Modifikationen oder als Teile eines Kreislaufes erwiesen.

a) Die Zeit der fast ausschließlich mikroskopischen Beobachtung.

Längere Zeit nachdem Ehrenberg (1838) bei seiner Gattung Monas die Bildung von „Eiern" und bei Gallionella kugelige Körper als „Ovarien" beschrieben hatte, hat Perty (1852) die ersten ausführlichen Studien über den Generationswechsel gemacht. Seine Entdeckung der Endosporen wurde ihm geglaubt, aber seine vortrefflichen Bilder, welche die Bildung und Entwicklung von Gonidien und die weitere Entwicklung normaler Spirillen sehr klar bewiesen, blieben ohne Eindruck auf die spätere Zeit. Ebenso blieb die große Zahl weiterer Beobachtungen, welche auf allen Gebieten der Bakteriologie unter dem Mikroskop gemacht wurden, ohne Einfluß auf die spätere Entwicklung der Bakteriologie. Nur die von F. Cohn bei Crenothrix entdeckte Bildung von Mikro- und Makro-Gonidien ist späterhin als isolierte Entdeckung stehen geblieben.

Jene Forscher vor Robert Koch hatten bei ihren Studien den großen Nachteil, daß infolge der fehlenden Kriterien für eine Reinkultur syste-

matische Untersuchungen fast unmöglich waren. Die mikroskopische Beobachtung mußte im Vordergrund stehen. Die vegetativen Stäbchen wurden im hängenden Tropfen untersucht, und vielfach sah man kleine Körper entweichen. So Ehrenberg 1838; Perty 1852 („Blastia"); Karsten 1865 („Mikrogonidien"); F. Cohn 1870 („Mikro- und Makro-Gonidien",); Lankester 1873; Billroth 1874 („Kokken"); Davaine 1876 („Keimlinge"); Ewart 1878 („Sporen" und „Sporula"); Israel 1878.

Dabei war die Arbeitshypothese fast durchweg ein gemäßigter Pleomorphismus, wobei stets betont wurde, daß er keineswegs mit der Einheit der Art im Widerspruch stehe. Hans Buchner sagt ausdrücklich (A. H. 3., 361): „Die in Diskussion stehende Konstanz der Form und Wirkung hat nichts zu tun mit der unzweifelhaften Konstanz der Arten." Daß ein solcher Gedankengang später vergessen wurde, indem die Änderung der Morphologie als gleichbedeutend mit einem Wechsel der Art gehalten wurde (Mutation), ist ein Irrtum, der zu schweren Mißverständnissen führte und gegen den z. B. Gruber (W. m. W. 1885, 262 und 298) Stellung genommen hat. Seine Untersuchungen über Vibrionen hatten ihm gezeigt, daß kugelige, stäbchenartige und spirale Formen nur Wachstumstypen, aber keine Unterscheidungsmerkmale darstellen.

Löhnis sagt (life cycles, S. 42): Es ist ein grundlegender Irrtum, anzunehmen, daß das Eingeständnis des pleomorphen Charakters der Bakterien gleich sei dem Versuch, alle Bakterienspezies zu vernichten. Daß viele sogenannte Arten, die in die Literatur eingeführt wurden, — oft zu Dutzenden durch ganz unerfahrene Neulinge in der Bakteriologie —, wieder verschwinden müssen, steht außer Frage. Eine solche Ausmerzung von ganz wertlosem Ballast hat aber nichts zu tun mit einer Aufhebung gut beschriebener Arten. — Gute Arten werden nicht nur ihre Stellung behalten, sondern sie werden eine viel vollständigere und schärfere Definition erhalten, als sie jetzt besitzen.

Was die früheren Arbeiten betrifft, so sind Einwände gegen die benutzten Untersuchungsmethoden vielfach berechtigt (vgl. Löffler, Vorlesungen über die geschichtliche Entwicklung der Lehre von den Bakterien, 1887, S. 137), doch sind sicher zahlreiche gute Beobachtungen der Entwicklung im hängenden Tropfen dabei. Dadurch, daß die Forscher jener Zeit meist mit vegetabilischen Nährstoffen arbeiteten (Pflanzen-, Mist-, Pflaumen-Dekokte), haben sie Veränderungen gesehen, welche bei Verwendung der den Verhältnissen des tierischen Körpers angepaßten Fleischbrühe (womöglich in der erhitzten Kammer) nicht sichtbar werden, denn gerade die scharfe Abänderung der äußeren Bedingungen gibt dem Mikroorganismus den Anstoß zum Generationswechsel (siehe später).

b) Die Zeit der einseitigen Nährbödenmethodik.

In der Zeit Robert Kochs waren Befunde pleomorpher Erscheinungen ebenfalls nicht ausgeblieben; sie wurden besonders von ausländischen Forschern betont. Die neue Nährbodentechnik half ihnen, die Kreisläufe der Organismen weitgehend festzustellen. In diesem Sinne arbeiteten in Frankreich Artigalas (1885), Cornil et Babes (1890), Billet (1890), Macé (1897), Duclaux (1898), in England Bastian

(1872/1914), Lister und einige andere, Almquist in Stockholm (1882/1923), Ferran in Barcelona (1885/1923), Schroen (1886/1904) und Carpano (1913) in Italien, Löhnis (1916/1923) in Amerika.

Deutschland ging praktische Wege. Es galt, die Kausalität zwischen Erkrankung und Bakterien festzustellen. — Es galt ferner, der Medizin ein brauchbares Rüstzeug zu geben. Das war der Grundgedanke. Er führte zu einer bis in die kleinsten Einzelheiten ausgearbeiteten Technik der Nährbödenbereitung und der Züchtungsmethoden (Standardmethoden). Man legte genau die zeitlichen Umstände fest, schützte die Kulturen vor Sonne und Kälte, hielt sie immer auf geeigneten Nährböden und sandte sie von Zeit zu Zeit durch ein passendes Versuchstier, damit sie den Typus behalten. Man verwahrte sich gegen alle Versuche, die sich nicht in diesem Rahmen abspielten. Man drang darauf, daß nur mit frischen Kulturen gearbeitet wurde[1]) oder mit solchen, die durch wiederholte Passagen im Tier oder Passagen auf Nährböden, welche den tierischen Verhältnissen angepaßt waren, wieder typisch wurden, konnte aber nicht hindern, daß trotzdem allerlei auffallende Dinge gefunden wurden.

Durch allerlei Hypothesen half man sich über solche Abweichungen hinweg (man denke in Analogie an Cuviers Katastrophentheorie in der Zoologie), man behalf sich damit, die Zahl der Spezies zu vermehren, bis man schließlich sah, daß es vor lauter neuen Spezies keine Rettung mehr gab. Echte Verzweigungen wurden als falsche Verzweigungen erklärt (Eppingers Cladothrix asteroides[2])), oder sie waren ein genügender Grund, die Organismen als „Fungi" zu bezeichnen, obwohl sie alle Merkmale echter Bakterien aufwiesen; entsprechend wurden die Desmobakterien (Trichobakterien) zu den Algen gerechnet. Die von Matzuschita (1900) und Maassen (1904) auf Salznährböden erhaltenen Veränderungen wurden von ihnen selbst als Involutionsformen bezeichnet.

Diese Entwicklung der Bakteriologie, die im großen Gegensatz zu den Lehren anderer, meist ausländischer Forscher stand, wurde vielfach Robert Koch zugeschrieben, jedoch steht dieser ausdrücklich auf dem Standpunkt, daß Veränderungen bei Bakterien vorkommen können (vgl. Gesammelte Werke, Bd. I, S. 201, „Zur Ätiologie des Milzbrands", und S. 651, „Über bakteriologische Forschung").

Er empfahl aus praktischen Gründen eine möglichste Unterteilung nach Form und Wirkung, ohne sich um die Systematik, d. h. um die Einordnung in Spezies und Formen zu kümmern. Er verwahrte sich direkt gegen die Ansicht, daß er Veränderungen nicht zugebe, nur müßten sie bewiesen werden. Auch F. Cohn hat 1872 ähnliche Gedanken ausgesprochen (Beitr. z. Biol. d. Pflanzen I, 130).

Sicher ist die monomorphistische Entwicklung der Tatsache zuzuschreiben daß die von R. Koch eingeführte Nährbödentechnik eine riesige Entwicklung nahm und man die erhaltenen Befunde verallgemeinerte. Die praktische Rich-

---

1) A. Fischer, Untersuchungen über den Bau der Bakterien, Jena 1897, S. 94: „Man sollte über einen Tag alte Kulturen niemals zu Studien über den Bau der Bakterien verwenden, da schon nach dieser Zeit — die Bakterien anfangen, sich übel zu befinden."

2) Nocard (A. P. II. 293) hat echte Verzweigungen bei Actinomyces farcinicus abgebildet sie aber für unecht erklärt.

tung in der Bakteriologie hielt sich fest an die Norm und trieb im begrenzten Gebiet der traditionellen Methoden die Systematisierung immer weiter. Die diagnostische Bakteriologie hat in wenigen Jahrzehnten eine Riesenaufgabe bewältigt; in der Medizin hat sie das Mögliche geschaffen. Die Zahl der diagnostischen Hilfsmittel ist fast nicht übersehbar; sie alle haben zur Richtschnur, die Verhältnisse des tierischen Organismus möglichst nachzuahmen, um so die Konstanz der Befunde zu garantieren. Dies war besonders den medizinischen Bakteriologen vorbehalten. Der botanisch denkende Bakteriologe hat sich mit dieser Richtung nie einverstanden erklärt, die einzelnen Forscher haben je nach Unabhängigkeit oder Abhängigkeit von der monomorphistischen Lehre mehr oder weniger Widerstand geleistet. Sie haben in Zeit und Milieu andere Bedingungen studiert[1]) und ihre Schlüsse waren um so erstaunlicher, je mehr sie sich von der monomorphistischen Idee freigemacht hatten, je bedingungsloser sie an die Probleme herangingen, die außerhalb des eng gesteckten Rahmens der Diagnostik liegen. —

K. B. Lehmann und R. O. Neumann haben durch die 7 Auflagen ihres Lehrbuchs der Bakteriologie hindurch stets einen vorsichtigen, pleomorphistischen Standpunkt eingenommen. Sie schrieben schon im Jahre 1896 folgende treffende Sätze (p. 110 — 112): „Wir haben z. B. gelernt, daß auf verschiedenen Nährböden die mikroskopischen Formen in weitem Umfange variieren" — „Es ist heute noch nicht mit Sicherheit abzusehen, wie sich die Umgrenzung von Bakterienspezis später gestalten wird, ich müßte mich aber sehr täuschen, wenn das gründliche Studium der verschiedensten Bakterien in morphologischer und biologischer Richtung nicht schließlich etwa zu einem Bilde führte, wie dies heute die genauer studierten polymorphen Genera der höheren Pflanzen darstellen". — „Dem falschen Glauben, es müßten jeder biologisch resp. pathologisch hervorragenden Art auch morphologische Besonderheiten entsprechen, haben wir oft entgegentreten müssen. Viele Arten erscheinen in mehreren biologischen Formen".

Daß der Monomorphismus eine solche Bedeutung gewann, fiel innig mit der Kausalforschung zusammen. Die Feststellung der ursächlichen Bedeutung eines Bakteriums für den tierischen Organismus ist an gleichmäßige Verhältnisse geknüpft; der mutmaßliche Erreger muß, isoliert, im Experiment die Krankheit geben — eine Hauptforderung Henles und Robert Kochs. Erst wenn es gelingt, den einen Faktor (Bakterium) in der Kausalbeziehung (Bakterium-Organismus) beliebig aus- und einzuschalten und gesetzmäßig die Änderung des anderen Faktors (Organismus) zu erhalten, ist der Schluß bündig. Aber in vielen Fällen versagt diese Prüfung. Man warf sich deshalb auf den tierischen Organismus und hat hier eine Immunitätswissenschaft von größtem Ausmaß gegründet und vielfach tatsächlich die fehlende Angreifbarkeit durch den Erreger erklären können.

An eine spontane Abänderung des Erregers wurde zunächst nicht gedacht. Erst neuerdings mißt man dem Bakterienmaterial mehr Bedeutung bei (Bakterizidie-Festigkeit des Bakteriums im Körpergewebe, vgl. Toyoda und Mitarb. O. 89, 224, und O. 92, 271; Bail spricht vom „tierischen Zustand" der Bakterien).

1) So wird von Beijerinck (L. 4, 209 und L. 7, 33) sinngemäße Anpassung der Nährböden an die Verhältnisse der Außenwelt und die Anwendung längerer Reihen dieser Nährbodenpassagen (Akkumulation) gefordert.

Die Diagnostik benötigt stets gleiche Methoden, um möglichst gleichmäßige Resultate zu erhalten, die Forschung wählt möglichst andere, teilweise viel natürlichere Bedingungen.

Die Beziehungen zwischen Organismus und Erreger bestehen eben nicht in einem fixen Zustand des Erregers und in einem veränderlichen Zustand des tierischen Organismus (Immunität, Disposition), sondern der Erreger hat ebenfalls seine besonderen Bedingungen, um zu wirken. Diese gilt es, zu studieren: Einerseits die Umwandlung in unschädliche Formen (Variabilität, Kreisläufe, Avirulenz, andererseits die Bedingungen der üppigen Vermehrung der Bakterien („Verwendungsstoffwechsel") und der äußeren Einwirkung (Symbiose, Antagonismus). Erst dann wird es uns möglich sein, manches Rätsel der Disposition und Resistenz des einzelnen Organismus zu lösen und der Epidemiologie neue Wege zu vermitteln.

c) Die Zeit der Eingeständnisse.

Eine Unmenge einzelner Spezies war aufgestellt worden, und es schienen immer neue dazu zu kommen. Da wurde die Theorie der Mutation aufgestellt: Änderung von Gestalt und Leistung soll nun ein Akt der Neubildung sein, und zwar auf Grund der Vererbung erworbener Eigenschaften. Dies war durch Johannsens Aufstellung der reinen Linie bei absolut selbstbefruchtenden, homozygotischen Individuen naheliegend, weil man in der Einzellkultur nach Burri die nötigen Grundlagen für die Analogie bei den Bakterien fand (vgl. Tönniessen, Biol. Zentralblatt 35, 284, 1915, und Bernhardt, Z. H. 79, 241, 1915). Zudem machte man die Konzession, daß die erworbenen Eigenschaften nicht absolut fixiert bleiben, sondern wieder verlorengehen können — ein exakter Beweis irgendeiner Mutation wurde aber nicht erbracht. Die monomorphistische Idee aber war gerettet, die pleomorphistischen Arbeiten wurden als unrichtige Beobachtungen abgetan oder blieben völlig unbeachtet. Alle nicht im legalisierten Rahmen der schematischen Untersuchungsmethoden erhaltenen Befunde waren Kunstprodukte, teratologische Formen, Involution, Degeneration oder auf fehlerhafte Technik zurückzuführen. Nur A. Fischer (1897) wagte es, „zufällige Vorkommnisse" anzuerkennen.

Auf dem Mikrobiologentag 1924 in Göttingen hat Gotschlich (0.93,2*) in seinem Referat über die Variabilität der Mikroorganismen ebenfalls mutationstheoretische Gedanken entwickelt; er sagt: „Wir kennen die meisten Mikroben jetzt seit etwa 40 Jahren; in dieser Zeit können an ihnen biologische Veränderungen erfolgt sein, wie sie bei höheren Lebewesen erst binnen geologischer Epochen zu erwarten sind", und weiter S. 7: „Einen vollständigen Umschwung brachte dann die Jahrhundertwende, in erster Linie infolge der Wiederentdeckung der seit Jahrzehnten in Vergessenheit geratenen Mendelschen Gesetze und durch das monumentale Werk von H. de Vries, „Die Mutationslehre", vom Jahre 1902. Nunmehr war erst die Variabilität in ihrer ganzen theoretischen Bedeutung erkannt, indem hier zum ersten Male bewußt die tatsächliche Existenz und Wichtigkeit sprunghafter Varianten erkannt war, während man früher immer nur mit ganz allmählichen Veränderungen gerechnet hatte. — Die Anwendung dieses neuen Begriffes auf die Mikrobiologie ließ nicht lange auf sich warten und erwies sich als durchaus fruchtbar."

Verfolgt man aber die Technik, wie solche sprunghaften Varianten gefunden werden (vgl. Bärthlein i. Kraus-Uhlenhuth, S. 1200; O. 71, 1; A. G. A. 40, 433) so findet man, daß die Umwandlungsprozesse selbst nicht studiert werden. Man überläßt die Bouillonkulturen sich selbst, ohne ihre Veränderungen zu beobachten, und streicht in regelmäßigen Zwischenräumen Material aus diesen Kulturen auf die Nährböden aus. Dabei findet man nach Monaten die sprunghaft

veränderten Organismen auf der Platte. Jeder Forscher weiß aber, daß innerhalb alter Kulturen Auflösungsvorgänge stattfinden, welche bisher viel zu wenig beachtet und als wertloser Detritus bezeichnet wurden. Es steht also nicht mit Sicherheit fest, ob diese plötzlichen sprunghaften Varianten aus beim detritusartigen Zerfall übriggebliebenen vegetativen Formen oder aber aus dem Detritus selbst zustande kommen.

Auch die Bildung der Knopfkolonien und der Segmente ist noch nie verfolgt worden, so daß hier das ,,sprunghafte" Entstehen noch nicht sicher steht, zumal sowohl diese ,,Mutationen" wie auch die ,,Degenerationsformen" fast immer auf der Höhe der Entwicklung einer Kultur entstehen.

Für die Bildung der sprunghaften Varianten (Mutationen) eignen sich die flüssigen Nährmedien in besonderem Maße, weil in ihnen viel früher die Bedingungen für die Auslösung der Variation (= ,,Mutation") eintreten als auf festen Nährböden. Aber ebenso bilden sich die Gonidien besonders rasch in flüssigen Nährböden. Diese Übereinstimmung muß zu denken geben.

Weiterhin sind die zur Erzeugung ,,sprunghafter Varianten" dienenden flüssigen Kulturen nur in einer bestimmten Zeit zu dieser Eigenschaft fähig; ,,ist dieser Zeitpunkt überschritten, so tritt bei den Kulturen eine rasche Abnahme derFähigkeit, zu variieren, ein, und schließlich entwickelt sich bei der Aussaat aus den alten Kulturen wie am Anfang der Untersuchung auf dem neuen Nährboden in der Regel wieder nur die eine bestimmte Kolonieart" (Bärthlein, Kraus-Uhlenhuth, S. 1201). Auch dies stimmt mit Beobachtungen an Kreislaufformen überein; vielfach wurden nämlich auf der Höhe der Entwicklung in größerer Zahl ,,degenerierte" Organismen gefunden, doch späterhin nur noch typische (vgl. Löhnis, S. 30). Ferner zeigt sich die Übereinstimmung im Tierversuch; ,,sprunghafte Varianten" werden hier ebenso gebildet wie reichlich Gonidien, beide in optimalen Zeitverhältnissen, beide bei bestimmter Dauer der Erkrankung. Hochvirulente, rasch tötende Stämme haben weder Zeit zur Bildung von Gonidien noch zur Bildung ,,sprunghafter Varianten". Die Frage, ob die ,,sprunghaften Varianten" in Wirklichkeit die letzten Stadien rasch durchlaufener Kreisläufe sind, steht demnach noch offen.

Weiterhin zeigt sich, daß man neben diesen sprunghaften Formen alle Übergänge von ganz vorübergehenden bis zu festhaftenden Änderungen bekommt (vgl. Tönniessen, ,,Prämutationsphasen", 0,69, 400, und Burri, L. 28, 321). Gewiß hat es etwas Bestechendes, eine bestimmte Anzahl von Typen scharf zu umgrenzen, etwa die 4 Ruhrtypen, 4 Pneumokokkentypen, 4 Gonokokkentypen, 3 Brucellatypen usw., und Gotschlich hat auch eine besondere strukturchemische Theorie entwickelt; aber es hat sich stets gezeigt, daß viele Ausnahmen vorkommen, indem z. B. das Kriterium der Agglutination versagen kann oder neue Agglutinationskreise gefunden werden, und zwar um so mehr, je umfassender man forscht (s. Pasteurella, Salmonella, Diphtherie usw.). Aber neben der Agglutination sind noch zahlreiche andere Merkmale ebenso variabel.

Man kommt deshalb mit der Mutation (de Vries) nicht aus, sondern benötigt daneben die Modifikation, — ein Ausdruck, welchen Nägeli einführte und der auf Umstimmung durch den äußeren Reiz unter früherer oder späterer Rückkehr zur Ausgangsform nach Aufhören der Einwirkung begrifflich festgelegt ist. Dieser Name hat eine Reihe von Nachfolgern gehabt, man sprach von Adaption, Akkomodation, Paravariation, Phänovariation, Transformation und setzte diese Begriffe in Gegensatz zur Genovariation, Dauervariation, Fluktuation, Klonumbildung, die begrifflich mit einer Änderung in der Phylogenie übereinstimmten. Da aber jeder

Beweis einer echten Mutation bei den Bakterien fehlt[1]) — ein Standpunkt, welchen vor allem Jollos (O. 93, 32*) und E. Lehmann (O. 77, 298) betonen, ist man übereingekommen, nur von „Dauermodifikationen" zu reden. Es handelt sich dabei aber nicht lediglich um den Wechsel eines Ausdruckes, sondern um das prinzipielle Aufgeben des Mutationsgedankens und damit der Konstanz der Art (vgl. S. 49*). Es wird jeder Spezies eine Reihe von Formen zugestanden und diese Tatsache findet ihren Ausdruck in den begrifflichen Fixierungen als „Alternation", wie sie Tönniessen (O. 86, 353) gebildet hat oder als „zirkuläre Variation", wie sie von Schmitz aufgestellt wurde (O. 83, 210).

Auch für die schwankenden Agglutinationsverhältnisse in der Salmonellagruppe ist bereits der Begriff der „Phase" aufgestellt worden (Andrewes, Journ. Path. and Bact. 25, 505). Gildemeister (O. 93, 45) findet „Standortvariationen" von sehr ausgesprochenem Unterschied. Bärthlein (A. G. A. 40, 534) gibt an, daß die „Mutation" bei den meisten Spezies mehrere verschiedene Gruppen von Veränderungen aufweist; Beijerinck fand bei Bact. prodigiosum 12 „Mutationsformen".

Neben dieser Entwicklung, welche die medizinische Bacteriologie nahm, hat die Idee des Pleomorphismus nicht aufgehört, weiter zu bestehen und sogar sehr an Bedeutung gewonnen. Auf diesen Gebieten hat durch die Arbeiten namhafter und ernster Forscher wie: Löhnis und Smith (1916), Almquist (1917), Fedorowitsch (1902), Hort (1915/17) an Micrococcen, Beijerinck (1901), Löhnis und Smith (1916) bei Sarzinen, Thiercelin (1899/1903), Maddox (1885) an Streptococcen, Hauser (1885) an Proteus, Albrecht und Ghon (1900) an Pest, Almquist bei Typhus, Ferran (1885), Stamm (1914), Finkler und Prior (1884), Gruber (1885/94) bei Vibrionen, Prazmowski (1912) und Löhnis (1914) bei Azotobakter, Graßberger und Schattenfroh (1900/07), Ghon und Sachs (1903) bei den anaeroben Bazillen, mehrere Forscher bei den Aktinomyzeten und Zopf (1879/83) bei den Trichobakterien (Desmobakterien) eine große Weiterentwicklung stattgefunden. Der Vibrio cholerae, zunächst als streng monomorph in Aussehen und Wirkung erklärt, wurde als eines der besten Beispiele eines weiten Pleomorphismus festgestellt. Ausgedehnte Studien sind auch an Spirochäten gemacht worden.

Das unübersehbare Material, welches sich durch diese Forschungen ergab, ist durch zwei große Arbeiten der neueren Bakteriologie gesichtet und geordnet worden; in umfassenden Studien hat Löhnis (Studies upon the life Cycles of the Bacteria, Washington 1921) bewiesen, daß der pleomorphe Gedanke stets und überall gelebt hat, wo sich Forscher mit Bakterien beschäftigten. Als Zeugen für diese Tatsache führt er etwa 1300 bakteriologische Arbeiten an und gibt etwa 380 Wiedergaben von Zeichnungen und Lichtbildern dieser Forscher.

Er hat gezeigt, daß diese Studien, die fast immer völlig unabhängig voneinander erfolgten, gut miteinander übereinstimmen: Zahlreiche Forschungen haben den sicheren Beweis ergeben, daß in Wirklichkeit alle

---

1) Daß echte Mutationen vorkommen können, ist theoretisch nicht zu leugnen, aber bisher sind sie nicht erfaßt worden. Auch die Dauermodifikationen haben sich in den meisten Fällen nach einiger Zeit wieder zur ursprünglichen Form zurückführen lassen.

Bakterien nicht nur deutlich pleomorph in ihrem vegetativen Wachstum sind, sondern auch die Fähigkeit besitzen, verschiedene Neubildungsorgane hervorzubringen.

Diese sind: Gonidien, Regenerativkörper, Exo- und Endosporen, Arthrosporen und Mikrozysten. Gonidien und Regenerativkörper nehmen lebhaft am Prozeß der Fortpflanzung teil, während die anderen reproduktiven Organe in erster Linie Ruheformen sind. Die Bildung der Gonidien ist am größten auf der Höhe der Bakterienentwicklung. Sie können in der Mutterzelle wachsen, bilden dann Knospen, Zweige oder direkt neue vegetative Zellen in der alten Membran, oder sie werden frei, indem sie die Zellwand durchbrechen, welche entweder aufbricht, Schattenformen zurücklassend oder sich ganz auflöst. Die Resistenz der Gonidien gegen Erhitzung ist nicht größer als bei den vegetativen Zellen, aber sie sind widerstandsfähiger unter ungünstigen Verhältnissen, besonders gegen Austrocknung. Gewöhnlich wachsen die Gonidien nicht direkt zu neuen vegetativen Zellen auf, sondern gehen erst in den Zustand der Regenerativkörper über, wobei sie meist eine üppige Vermehrung zeigen, im Gegensatz zu dem sehr schwachen Wachstum in der Gonidienform. Gonidien können auch so gebildet werden, daß die vegetativen Zellen zu großen, runden, birnförmigen, spindel- und keulenförmigen Individuen heranwachsen (Gonidangien), welche später eine große Anzahl von Gonidien freiwerden lassen. Alle Bakterien, sporenbildende und nichtsporenbildende gleich, brauchen ihre Gonidien als eine Art der Vermehrung und Neubildung, während die mehr oder weniger resistenten Endosporen ihre besondere Aufgabe als Restform (Involutionsform) haben, in welcher Hinsicht sie durch die Gonidien nur in sehr beschränktem Ausmaß ersetzt werden können. Manche Gonidien sind filtrierbar.

Der Übergang der Gonidien in Regenerativkörper drückt sich nicht nur in üppigem Wachstum aus, sondern auch in der Annahme bestimmter Wuchsformen, die oft weitgehende Ähnlichkeit mit den Wuchsformen der Kokken und Bakterien besitzen (vgl. auch Lantzsch, L. 57, 309). Erst von diesem Stadium erfolgt gewöhnlich, aber oft erst nach langer Zeit, der Übergang zur typischen vegetativen Ursprungsform.

Vegetative Formen, Gonidien und Regenerativkörper, ja sogar Endosporen können sich in einen amorphen Zustand umändern, ja alle bisher studierten Bakterien leben abwechselnd in einem organisierten und einem amorphen Stadium (Symplastisches Stadium). Zellbegrenzung und Zellinhalt lösen sich auf, oder es verschwinden die Inhalte vieler Zellen zu einem homogenen Gebilde, welches gewöhnlich als Schleim, Detritus, granuläre Dekomposition, Autolyse bezeichnet wird. Aus dieser amorphen Masse wachsen dann regenerative Einheiten zu Regenerativkörpern aus, die dann entweder durch Keimung oder durch Streckung zu Zellen von normalem Aussehen werden.

Jede Phase dieser Lebensgeschichte der Bakterien wurde von mehreren, manchmal von vielen Forschern entdeckt, aber in verhältnismäßig wenig Fällen wurde der ganze Lebenskreislauf einer Art erforscht.

Es treten aber dabei nicht mehr oder weniger anormale Formen unregelmäßig auf, sondern es erscheinen ganz regelmäßig bestimmte Formen und Stadien des Wachstums. Daß diese anormalen Formen keine Involutionsformen sind, geht aus ihrer weiteren Entwicklung hervor und vor allem aus der Tatsache, daß sie sich auf der Höhe der lebhaftesten Bakterienvermehrung bilden. Beobachtungen, wie sie Kruse und Pansini (Z. f. H. 11, 283) gemacht haben[1]), sind sehr allgemein.

Daß viele irrtümliche Beobachtungen gemacht wurden, ist durchaus möglich, weil die Gonidienformen sich teilweise überhaupt nicht, teilweise aber nur schwer durch Spaltung vermehren und deshalb auf den Nährböden kaum sichtbare Kolonien bilden. So könnte z. B. die von Reichenbach (O. 93, 115*)

1) Die Verfasser schreiben über die „Bazillenformen" der Streptokokken: „Involutionsformen möchten wir dieselben nicht nennen, im Gegenteil scheinen sie in diesem Fall einem Exzeß im Wachstum ihren Ursprung zu verdanken, denn die Kulturen gedeihen viel besser als anfänglich."

gemachte paradoxe Beobachtung gut durch Gonidienbildung erklärt werden. Er fand, daß Bact. coli durch geringe Mengen Malachitgrün abgetötet wird, wenn niedere Temperaturen oder destilliertes Wasser zur Anwendung kommen; dagegen hemmen ohne diese Umstände sogar höhere Dosen nicht einmal das Wachstum. Gerade bei niederer Temperatur werden vielfach Gonidien gebildet.

Merkwürdig ist auch, daß die Tuberkelbazillen in Flüssigkeiten (hier verhindert der Glasbehälter eher noch die Wirkung der Strahlen!) vom Sonnenlicht unverhältnismäßig viel rascher abgetötet werden als im trockenen Zustand. Das gleiche gilt von der Diphtherie. Die Erklärung, daß die vegetativen Formen sich in den Flüssigkeiten in Gonidien verwandeln, scheint mir einleuchtend (vgl. Enderlein, S. 218.)

Während Löhnis in großen Strichen und mit umfassendem Material die einzelnen Abschnitte der Kreisläufe darstellte, hat Enderlein (Bakterien-Cyclogenie, Berlin und Leipzig 1925) nicht nur die Vorgänge bis ins kleinste verfolgt, sondern auch die letzten Konsequenzen gezogen. Diese bestehen vor allem darin, dem verhängnisvollen Vermischen der Begriffe ein Ende zu bereiten. Eine neue logische Terminologie, die allerdings teilweise recht unbequem ist und wohl manches überflüssige Wort enthält, löst die heillose Verwirrung, welche in der Anwendung der klassifizierenden Gattungsnamen (Micrococcus, Bacterium, Bacillus, Vibro) für morphologische Erscheinungen bestand. Da man vielfach „Kokken" und „Gonidien" miteinander identifizierte, wie es z. B. Zopf 1883 machte und nach ihm viele, da weiterhin für die Gonidien und Regenerativkörper eine große Anzahl von Namen geschaffen wurde, so mußte hier zunächst Ordnung gemacht werden. Diese Aufgabe hat Löhnis historisch und Enderlein morphologisch gelöst.

Nach Enderlein zeigen Bakterien im Hungerzustand, in welchem sie arm an Dottersubstanz (Miotrophit) oder sogar frei davon (Atrophit) sind, den feinen Urkern (Mych). Dieser ist besonders deutlich sichtbar, wenn er noch von einem Mantel von Dottersubstanz (Trophokonien) umgeben ist, welcher breiter (Trophosom) oder schmäler (Trophosomelle) sein kann. In der dotterreichen Zelle (Pliotrophit) ist nichts davon zu sehen, denn der Dottergehalt bedingt die Färbbarkeit und läßt den Urkern nicht mehr hervortreten. Zellen, welche nur einen Urkern besitzen, sind rund und heißen Mychite. Gelegentlich kann sich der Urkern in 2 Dotterkerne teilen; diese sind zunächst durch den Urkernbogen miteinander verbunden, um sich dann polar gegenüberzustehen. Die Zelle ist dann oval und heißt Diplomychit. Drei Mychite sind selten. Mychit, Diplomychit und Triplomychit sind Zustandsformen der Monomychoten, zu denen z. B. die Mikrokokken gehören, ebenso die Gonidienstadien der höher organisierten Bakterien.

In der länglichen Zelle (z. B. der Bacteriaceen) sind dauernd und in solider Vereinigung 2 Mychite vorhanden, welche sich in der Nähe der Pole befinden. Die Urkerne selbst sind nicht zu sehen, sondern nur ihre Dotterhüllen. Dieser Zustand heißt Dimychit. Vereinigen sich 2 Dimychosen zu einem Individuum (die Urkerne liegen entweder in der Längsachse oder unregelmäßig, endständig oder zwischenständig, mit verschieden starkem Dottermaterial umgeben), so spricht Enderlein vom Didimychit. Vereinigung mehrerer Dimychosen zu einem höheren Verband ist ein Syndimychit; wo mehrere Urkerne zu einem polydynamen Mychit vereinigt sind, liegt ein Symmychit vor (z. B. Zystit, welches wohl der Gonidangie von Löhnis entspricht).

Jede Spezies bewegt sich gewöhnlich in zwei nah verwandten, alternierenden Wuchsformen und besitzt eine Kulminante, über welche ihre Entwicklung nicht hinausgeht. Bei den Mikrokokken und Streptokokken alternieren Mychit und Dimychit (Basitstadium), wobei bei den Mikrokokken und beim Streptococcus pyogenes das Mychit überwiegt (Probasitstadium) und bei Streptococcus lanceolatus das Dimychit (Anabasitstadium). Eine Vermittlung zwischen diesen beiden

Stadien stellt das Basoitstadium dar, bei dem sich je 2 Mychite zum Diplomychit vereinigen; dies ist die Kulminante bei den Sarzinen.

Die Bakterienformen alternieren gewöhnlich zwischen Dimychit und Didimychit (Phytitstadium). Entweder steht das Dimychit im Vordergrund (Prophytit) oder das Didimychit (Anaphytit). Lange Fadenformen alternieren zwischen Didimychit und Syndimychit (Aszitstadium); bei dünneren Organismen liegen die Urkerne stets in einer Reihe hintereinander (catatact), wie es gelegentlich bei Cholera, Typhus, Paratyphus und Pest vorkommt, oder aber unregelmäßig (syntakt) angeordnet, wie es den Spirillen und den Desmobakterien entspricht. Dieses Stadium wurde auch bei Milzbrand gefunden. Gleichzeitig sind Gabel- und Astbildung häufig. Das Ascit kann in Dimychosen zerfallen (Phytaszit), Endosporen (Sporit) bilden, Gonidien abschnüren oder in solche zerfallen oder Zystite (Gonidangien) bilden. Sind Gonidien gebildet, so folgen alle Zyklostadien aufeinander, bis die Kulminante erreicht ist, worauf wiederum der Zerfall in niedere morphologische Einheiten einsetzt. Bei den Monomychoten geht die Entwicklung entweder nur bis zum Probasit (Mikrokokken) oder zum Anabasit (Strept. lanceolatus), sie besitzen also einen sehr kleinen Kreislauf, indem sie nur Gonidien und Gonidangien bilden, welche wieder zum Basitstadium zurückkehren. Bei den höchsten Organismen geht dagegen die Entwicklung vom Gonidienstadium (Gonit) über das Probasit — Anabasit — Prophytit — Anaphytit zur Kulminante im Synascit, um nun wieder Gonidien oder Zystite zu bilden oder in Basite zu zerfallen. Zwischen Gonit und Probasit ist vielfach eine geschlechtliche Phase eingeschaltet, indem sich aus der Gonidie durch Halbierung des Mych (Mychomerit) ein Spermit oder ein Oit entwickelt. Nach Enderlein finden echte Kopulationsvorgänge statt, andererseits kann ein Zusammenfließen einer ganzen Anzahl von Zellen zum Symplast (das Symplasma von Löhnis) stattfinden.

Nach Enderlein gehört die geschlechtliche Phase zum vollständigen Kreislauf. Ich werde darauf bei meinen Kreuzungsversuchen zurückkommen.

Die morphologische Entwicklung der Bakterien erfolgt von der einfachsten Einheit bis zum höchsten Aufbau, welcher der einzelnen Spezies zukommt und endet wieder mit der Einheit. Einen solchen Kreislauf nennt Enderlein eine Zyklode. Neben dieser Vermehrungsform (Probaenogenie) findet stets eine Vermehrung durch einfache Teilung (Auxanogenie) statt. Wird durch innere oder äußere Ursachen der Probaenogenie ein Riegel vorgeschoben (Mochlose), so steht die Auxanogenie ganz im Vordergrund. So wird in der diagnostischen Bakteriologie die Kultur möglichst im Virostadium festgehalten, welches aber nur manchmal mit der Kulminante zusammenfällt. Es gibt aber Stämme, die trotz der sorgfältigsten Technik nicht in der Mochlose bleiben, sondern diese durchbrechen (Mochlolyse). Die Mochlolyse ist praktisch jedem Forscher bekannt, der trotz aller Vorsichtsmaßregeln nicht verhindern kann, daß eine Wuchsform ihm plötzlich unter den Händen verschwindet und auch oft nicht wieder zu erhalten ist.

Die Zyklogenie ist die Wiederholung der Phylogenie in der Gegenwart, und zwar in getrennter Form an zahllosen Generationen von Individuen. Enderlein gibt nicht nur einen Stammbaum der Bakterien auf morphologischer Grundlage, sondern auch eine völlig neue Systematik der Bakteriologie, welche meist eine ganz andere Terminologie trägt, als sie bisher verwandt wurde. Die Einteilung ist rein morphologisch und gründet sich auf die Frage: „Welche Wuchsformen kommen bei der Einzelspezies vor.“[1])

---

1) Enderlein hat also durchaus den Standpunkt Nägelis, welcher 1882 in seinen Untersuchungen über die niederen Pilze, S. 138, folgendes schreibt: „Es wird bei den Spaltpilzen die nämliche Erfahrung sich wiederholen, die in neuerer Zeit an den übrigen Pilzen gemacht wurde, wo die verschiedenartigsten morphologischen und physiologischen Erscheinungen als verschiedene Generationen einer und derselben Spezies erkannt wurden. — Die Spezies wird nicht durch absolute Merkmale kenntlich sein, sondern dadurch, daß sie unter bestimmten äußeren Umständen bestimmte Modifikationen des morphologisch-physiologischen Verhaltens, unter anderen Umständen andere Modifikationen zeigt. Ein System der Spaltpilze nach Gattungen und Arten mit den jetzigen

Jugendliche Zyklostadien (Basit, Phytit) sind vielfach nicht als solche zu erkennen; es liegen hier dieselben Verhältnisse vor wie vielfach in der Zoologie, wo man die Larvenform einer Fliegenart oft erst bestimmen kann, wenn man die Aufzucht der Larve bis zur Imago durchgeführt hat. Enderlein sagt: „Zweifellos werden innerhalb der Bacteriidae noch eine große Reihe von Formen bei genauer zyklogenetischer Kenntnis und Feststellung der Kulminante zu den Synaskoten gebracht werden können, besonders aus der Gattung „Bacterium" (und Micrococcus!), die von jeher ein Asyl für systematisch unklar festgelegte Spezies war" (S. 235).

Was nun die Modifikationen anbelangt, so steht Enderlein auf dem Standpunkt, daß alle Änderungen der physiologischen Eigenschaften wie Schleimbildung, Farbstoffbildung, enzymatische Eigenschaften, Pathogenität usw. durchaus als eine Erscheinung der Cyclogenie aufzufassen seien. Er nennt solche Modifikationen Konkulminanten. Auch Löhnis steht auf diesem Standpunkt, indem er die Modifikationen als „Subcycles" betrachtet, als Unterkreisläufe, die weite morphologische und physiologische Differenzen zeigen und untereinander fast immer durch das symplastische Stadium verbunden sind. Beide Forscher geben auch auf die Verzweigung als systematisches Merkmal wenig. Für Löhnis bedeutet sie das intrazelluläre Auswachsen von Gonidien zu neuen Vegetativformen, für Enderlein ist das gegabelte Aszit im morphologischen Aufbau nicht vom einfachen Aszit verschieden. Auch die färberische Reaktion, die mehr vom zufälligen Gehalt an Dottersubstanz abhängt, ist für beide Forscher ohne Besonderheit als Einteilungsprinzip.

So stehen alte Gedanken in neuer Aufmachung plötzlich wieder da, und es ist nötig, dazu Stellung zu nehmen. Während die Arbeit von Löhnis den aufmerksamen Leser vielfach überzeugen wird, weil er manchen Anhaltspunkt für eigene Wahrnehmungen findet, wird Enderleins Arbeit vielfach größter Skepsis begegnen, die hauptsächlich ausgelöst wird durch die Behauptung, daß er an Organismen von 0,1—0,3 μ noch winzige Differenzierungen beobachtet hat (vgl. Mychomitose, Kopulationsvorgänge, Verbindungsstück am Spermit usw.) und Einheiten von 0,01—0,03 μ Größe (wie z. B. das Centriolit) gesehen haben will. Da er weiterhin seine Funde nur durch Zeichnungen belegt, die allerdings mustergültig sind, so wären doch die photographischen Reproduktionen, die Löhnis in den Vordergrund stellt, viel vertrauenerweckender gewesen.

II. Eigene Untersuchungen.

a) Veranlassung.

Als ich meine Studien über saprophytische Mykobakterien machte (L. 71), prüfte ich die Frage, ob es möglich sei, aus Mycobacterium lacticola perrugosum L. et N. das Mycob. lacticola planum L. et N. darzustellen. Dies gelang nach einigen Passagen durch Zusatz der Kulturfiltrate jeweils der vorhergehenden Generation. Aber nach weiteren Passagen erhielt ich schleimige Kolonien mit plumpen, kurzen Organismen, deren Säurefestigkeit verschwunden war und die sich vielfach nach Gram entfärbten.

Ich entschloß mich, diese Erscheinungen zunächst nicht weiter zu verfolgen, sondern dieselbe Methodik an einem vielfach studierten Organismus anzuwenden, der charakteristische Koloniebilder liefert, raschwüchsig ist, charakteristische Tierpathogenität zeigt und in seinem Verhalten nach bisherigen Erfahrungen größte Konstanz besitzt. Meine Wahl

---

Hilfsmitteln aufzustellen, hat keinen wissenschaftlichen Wert." Enderlein hat also nunmehr versucht, eine wissenschaftliche Systematik zu gründen.

fiel auf den Bac. anthracis, zumal hier die Endospore ein ideales Ausgangsmaterial bildet[1]).

Ferner glaubte ich damals noch, eine „gute Art" vor mir zu haben, denn die relativ wenigen Modifikationen, die bisher sicher bekannt sind, liegen dem Typus so nahe, daß der Abstand von anderen Spezies deutlich bleibt.

Die Versuche die vor fast 3 Jahren begonnen wurden und die ich in kurzer Zeit zu erledigen hoffte, wurden immer ausgedehnter, und heute liegt ein so großes Protokollmaterial vor mir, daß ich nur die wichtigsten Grundzüge mitteilen kann. Je mehr ich mich in die Erscheinungsformen dieses Organismus hineinlebte, desto verwickelter wurden die Verhältnisse, und erst die Versuche der späteren Zeit und die umfangreichen Literaturstudien wiesen Richtung, die erhaltenen Ergebnisse zu erklären.

Zu meinen Studien waren mir Bac. anthracis Stamm „Kehl" aus dem Freiburger Hygienischen Institut und die Stämme „F", „J", „M" und „D" von Herrn Privatdozent Dr. Lutz in Stuttgart, mit welchen dieser gearbeitet hatte (Z. H. 97, 12), in freundlichster Weise zur Verfügung gestellt worden. Daneben verwandte ich die in unserer Sammlung befindlichen Pseudomilzbrandstämme „Erlangen", „Sobernheim", „Hüppe und Wood' und „Lippert". Es stellte sich aber bald heraus, daß die sich immer mehr komplizierende Versuchsanordnung das Arbeiten mit so vielen Stämmen nicht mehr zuließ, andererseits waren die Pseudomilzbrandstämme viel schwerer zu ausgesprochenen Veränderungen zu bewegen. Ich arbeitete deshalb hauptsächlich mit Stamm „Kehl" und Stamm „Lutz J" und zog die anderen Stämme im Bedarfsfalle heran, wenn ich irgendwelche Bestätigung oder Aufklärung durch sie erhoffte. Die Stämme verhielten sich auf Agar, Gelatine und Bouillon typisch; die Pseudomilzbrandstämme waren beweglich, die echten Stämme nicht. Alle waren gut Endosporen bildend. Die echten Stämme töteten Mäuse und Meerschweinchen in 23 bis 46 Stunden.

Von jedem Stamm wurden mehrmals hintereinander Gußplattenserien angelegt, sie erwiesen sich als völlig rein, sowohl 1/1 als auch 60/1. Auch die zahlreichen mikroskopischen Präparate ließen nur Milzbrandfäden erkennen. Von der Burrischen Tuschemethode wurde daher Abstand genommen, zumal sie bei den festen Kettenverbänden schlecht anwendbar ist und einige Mängel besitzt (vgl. später). Jedem neuen Ansetzen der Stämme ging die gleiche Reinigung voraus.

b) Plan meiner Untersuchungen.

Es war mir von vornherein klar, daß nur über mehrere Passagen fortgeführte Stämme ausgesprochene Veränderungen zeigen könnten. Weiterhin wollte ich die Versuche möglichst den natürlichen Bedingungen anpassen und verwandte daher nie in der Hitze sterilisierte Medien, sondern nur solche, die durch Bakterienfilter keimfrei gemacht waren. Zunächst verwandte ich Berkefeldfilter, die einer umständlichen Reinigung (nach v. Angerer) bedurften, später mit bestem Erfolg die von Knorr angegebenen Kieselgurfilter. Auf diese Weise wurden Milzbrandkulturen, Pyozyanase und Pyozyaneuskulturen, Bodenextrakt, Faul-

1) Zunächst habe ich allerdings — einer vorläufigen Arbeitshypothese entsprechend — nur mit vegetativen Formen gearbeitet; es zeigte sich aber bei Wiederholung der Versuche mit Sporenmaterial das gleiche Verhalten.

flüssigkeit, destilliertes Wasser und physiolog. NaCl-Lösung keimfrei gemac Dies hat den Vorteil, daß auch sämtliche Fremdkörper aus der Flüssigkeit verschwunden sind, die späterhin bei Untersuchung der Kulturen störend (Gewebsreste) oder irreführend (abgetötete Bakterien) wirken können. Vielfach mußte ich mehrere Filtrationen hintereinander anwenden und habe das später grundsätzlich gemacht.

Es wurden nun zunächst Reihenkulturen mit den eigenen Stoffwechselprodukten gemacht, indem die Bouillonkulturen oder die Agarkulturen der vorhergehenden Züchtung jeweils für die neue Züchtung zur Verwendung kamen. Zur Erreichung der optimalen Wirkung mußten Züchtungsdauer, Filterdichte (Höhe der Kieselgurschicht), Zahl der Filtrierungen und das Mischungsverhältnis mit neuen Nährstoffen festgestellt werden. Da sich Veränderungen in der Morphologie erst nach einigen Passagen einstellten, so mußte für mich die sich schon beim ersten Zusatz einstellende Wachstumsbeschleunigung und Üppigkeit der Kulturen, die wir bei allen untersuchten Mikroorganismen sahen und die auch Bieling und Schmidt bei Tuberkulose fanden, das Kriterium für die Wirkung der Filtrate sein. Als Optimum fand ich:

Vollentwickelte Schrägagarkulturen werden nach sorgfältigem Abflammen des Reagensglasrandes in einen sterilen kleinen Kolben gegeben, dazu physiologische NaCl-Lösung, zu 4 Agarzylindern (jeder 5 ccm) 25 ccm NaCl-Lösung. Nach etwa 4stündigem Brutschrankaufenthalt wird nach Umschütteln die Flüssigkeit durch ein bis zur mittleren Höhe fest gefülltes Kieselgurfilter filtriert und vom Filtrat 1 ccm zu 5 ccm flüssigem und bei 45° gehaltenem Agar gegeben. Die Röhrchen werden geschüttelt und schräg erstarrt, kurz darauf beimpft. Stets blieben Kontrollen unbeimpft.

Es hat sich nun gezeigt, daß die Ergebnisse um so günstiger waren, je mehr Eiweiß das Nährsubstrat enthielt. Untersuchungen mit synthetischen eiweißfreien Nährböden gaben wohl bei Filtratzusatz einige Entwicklungsbeschleunigung, doch durch größere Passagenreihen keine so ausgesprochenen morphologischen Veränderungen. Dagegen gab ein am hiesigen Institut ausgearbeiteter Alkali-Albuminat-Nährboden (Modifikation des Kleinschen Diphtherie-Nährbodens von M. Bauer) die besten Resultate. Gewöhnlicher Nähragar steht in der Mitte.

Ich habe versucht, durch Zentrifugieren die Keime von ihren Stoffwechselprodukten zu trennen, doch nicht mit befriedigendem Erfolge.

Versuchsanordnung (Versuch I):

15. 3. 1925.	Gewöhnlicher Nähragar.	Für jeden Stamm 5 Schrägagarröhrchen. 5 Stämme.
18. 3. 1925.	Filtrat$_1$-Agar.	Je 4 Agarkulturen mit Kochsalzlösung ausgezogen, filtriert (= Filtrat$_1$) und 5 neuen Agarröhrchen zugesetzt. Überimpfung vom 5. Röhrchen der ersten Reihe.
24. 3. 1925.	Filtrat$_2$-Agar.	Technik ebenso. Beimpfung jeweils mit dem fünften Filtrat$_1$-Röhrchen.
30. 3. 1925.	Filtrat$_3$-Agar.	Technik ebenso. Beimpfung jeweils mit dem fünften Filtrat$_2$-Röhrchen.
2. 4. 1925.	Filtrat$_4$-Agar.	Technik ebenso. Beimpfung jeweils mit dem fünften Filtrat$_3$-Röhrchen.
5. 4. 1925.	Filtrat$_5$-Agar.	Technik ebenso. Beimpfung jeweils mit dem fünften Filtrat$_4$-Röhrchen.

4. 1925. Filtrat$_6$-Agar. Technik ebenso. Beimpfung jeweils mit dem fünften Filtrat$_5$-Röhrchen.

11. 4. 1925. Filtrat$_7$-Agar. Technik ebenso. Beimpfung jeweils mit dem fünften Filtrat$_6$-Röhrchen.

14. 4. 1925. Filtrat$_8$-Agar. Technik ebenso. Beimpfung jeweils mit dem fünften Filtrat$_7$-Röhrchen.

Die Wasserstoffionen-Konzentration blieb. während der ganzen Passage konstant auf $pH = 7{,}3$. Später wurde statt Agar Albuminatagar genommen (Versuch II). Da es sich zeigte, daß in den Filterresten (Agarsäulen + physiolog. Kochsalzlösung) die ausgesprochensten Veränderungen vor sich gehen, wurden dieselben Versuche mit Bouillon und mit Alkali-Albuminatbouillon durchgeführt (Versuch III und IV).

Die Versuche dehnten sich über den Sommer 1925 aus.

Die in diesen Versuchsreihen erhaltenen merkwürdigen Bakterienformen hoffte ich nun im Tierkadaver zu finden. Denn die erhaltenen Organismen weichen so sehr vom Milzbrandtypus ab, daß ich mich fragte, ob das angebliche Absterben des Milzbrandes im toten Tier nicht ein Trugschluß sei. Ich kam daher zu folgender Fragestellung:

Welche Umwandlungen macht der Bac. anthracis im lebenden und im toten Versuchstier durch?

a) Tötung von Milzbrandmäusen in verschiedenen Zeiten nach der Infizierung (Versuch V):
6 Tiere Kehl: n. 4 Std. 8 Stdn. 12 Stdn. 16 Stdn. 20 Stdn. 23 Stdn. spont. Tod.
6 Tiere Lutz: n. 4 Stdn. 8 Stdn. 12 Stdn. 16 Stdn. 20 Stdn. 27 Stdn.

b) Tötung von Milzbrandmäusen kurz vor dem spontanen Tod (Versuch VI): Beobachtungen im hängenden Tropfen: Verschiedene Körperflüssigkeiten (Versuch VII).

c) Tötung milzbrandinfizierter Kaninchen kurz vor dem spontanen Tod. Sterile Entnahme von Milz- und Leberstücken; diese werden in sterile Kölbchen gebracht, mit sterilem Wasser übergossen und mehrere Wochen lang jeweils nach ein paar Tagen untersucht (mikroskopische Bilder und Züchtung aus der blutig verfärbten Flüssigkeit). Kölbchen, die Fäulnis zeigen, werden weggestellt (Versuch VIII).

d) Tötung eines gesunden Kaninchens. Sterile Entnahme von Milz, Blut und Leberstückchen; diese werden in sterile Kölbchen gebracht, mit sterilem Wasser übergossen und mehrere Wochen lang jeweils nach ein paar Tagen untersucht (mikroskopische Bilder und (erfolglose) Züchtung aus der blutig verfärbten Flüssigkeit (Versuch IX).

Da diese Versuche V—IX meine früheren Befunde völlig bestätigten und mir zeigten, daß der Bac. anthracis nur in einer bestimmten Phase, nämlich beim Tod des Tieres seine ausgesprochene typische Gestalt besitzt, suchte ich den Tierversuch dadurch abzuändern, daß ich dem Versuchstier eine erhöhte Resistenz gab (Versuch X), indem ich die Abschwächung der Wirkung des Erregers durch vorhergehende Vakzinierung der Versuchsstiere zu erreichen suchte. Sporenfreie Kulturen werden 1½ Stunden lang bei 60° abgetötet; sie erweisen sich steril.

Vakzination: 20. 9. 25.

Meerschweinchen I.	20. 9.	540 g;	intragluteal	0,5 ccm,
	21. 9.	560 g;	,,	0,5 ,,
	23. 9.	590 g;	,,	0,5 ,,
	25. 9.	545 g;	,,	0,8 ,,
	27. 9.	590 g;	,,	0,8 ,,
	2. 10.	625 g;	,,	1,0 ,,

Meerschweinchen II.	20. 9.	600 g;	subkutan	0,5 ccm,
	21. 9.	630 g;	,,	0,5 ,,
	23. 9.	640 g;	,,	0,5 ,,
	25. 9.	630 g;	,,	0,8 ,,
	27. 9.	620 g;	,,	0,8 ,,
	2. 10.	645 g;	,,	1,0 ,,

Am 6. 10. wurden die Tiere mit je 1 ccm normaler Bouillonkultur des frisch aus einer Maus gezüchteten Stammes „Kehl" subkutan geimpft. Ebenso ein Kontrolltier. Das erste Tier starb nach 4 Tagen, das zweite nach 3 Tagen mit ausgesprochen atypischem Befund. Die herausgezüchteten Kulturen wurden weiter verfolgt (Versuch XI), sowohl in der Gewebsflüssigkeit (hängender Tropfen) als auch auf den gewöhnlichen Nährböden. Es bestätigten sich die früheren Befunde.

Bei den bisherigen Versuchen wurden 8 Kulturformen — sämtlich vom Stamm Kehl — zur genaueren Beobachtung fortgezüchtet, die nun weiterhin in ihrem morphologischen und physiologischen Verhalten nach den gewöhnlichen Methoden untersucht wurden (Versuche XII-XIX). Insbesondere waren 2 Kulturformen von Interesse, von denen die eine sehr feine Stäbchen, die andere Streptokokken ähnliche Wuchsformen enthielt. Beide wuchsen sehr schwach. Es wurde untersucht, ob hier Geschlechtsformen vorliegen, und zwar, da die Dunkelfeldbetrachtung (einer etwaigen Kopulation) im hängenden Tropfen versagte, mit Plattenverfahren, indem beide Formen kreuzweise ausgestrichen wurden (Versuche XX), weiterhin durch lange Zeit durchgeführte Mischkulturen bei 37° und im Keller in ganz verschieden zusammengesetzten Nährflüssigkeiten mit den entsprechenden einfachen Kontrollen. Als Nährböden kamen vorwiegend synthetische in Betracht, die Zuckerarten, Eiweißkörper oder Fette als Kohlenstoffquelle enthielten (Versuch XXI). Da die Befunde nicht eindeutig waren, wurde diese Kreuzung mit den beiden Formen verschiedener Stämme (Lutz und Kehl) mit dem gleichen Ergebnis durchgeführt (Versuch XXII).

Gleichzeitig wurden diese Wuchsformen serologisch untersucht, indem je 2 Kaninchen gegen die beiden besonderen Kulturen vom Stamm Kehl immunisiert wurden; als Milzbrandserum wurde das präzipitierende Serum Höchst verwendet (Versuch XXIII). Die Immunisierungen wurden so durchgeführt, daß 24stündige Kulturen zunächst abgetötet (1¼ Stde. bei 57° in NaCl-Aufschwemmung), dann in steigender Konzentration am 16., 22., 27., 31. Okt., 12., 20., 26. Novbr., später in immer kürzer dauernder Erhitzung (¾, ½, ¼ Stde.) abgeschwächt, am 2., 11., 18. Dezember 1925 in die Ohrrandvene injiziert wurden, worauf im Januar 1926 Thermopräzipitationen nach Ascoli und Agglutinationen durchgeführt wurden. Um für die Vakzinen das notwendige Bakterienmaterial zu erhalten, mußten die ganz dürftig bewachsenen Platten abgeschwemmt werden.

Um die Wirkung fremder Stoffwechselprodukte zu studieren, begannen im November 1925 Versuche in größerem Umfang mit 7, später mit 5 verschiedenen Stämmen. Es wurde untersucht, wie sich die Milzbrandbazillen in Faulflüssigkeit (Versuch XXIV) verhielten. Rindermilz wurde in Stücke geschnitten, in einen Kolben mit dünner Bouillon gebracht und nachdem sich starke Fäulnis zeigte, die Flüssigkeit koliert, mit der Wasserstrahlpumpe durch Wattefilter gezogen und dann durch Kieselgurfilter geschickt. Vielfach reichten 4 hintereinander geschaltete

Filter nicht aus, um die Flüssigkeit keimfrei zu bekommen. Zwar blieben die kurz nach dem Filtrieren ausgestrichenen Platten immer steril, aber nach 4—8 Tagen trat oft eine reiche, vielgestaltige Flora auf, die meist aus dicken Fäulnisbazillen bestand. Ich konnte auch feststellen, daß das Filtrieren etwa zwischen dem 6. und 25. Tage nach Ansetzen der Fäulnis am aussichtslosesten ist. Besonders gut hielten sich Filtrate, wenn die Fäulnis 1—2 Monate gedauert hatte (Zimmertemperatur, zerstreutes Licht, verschiedene Jahreszeiten). Es gibt für diese oftmals festgestellte Erscheinung nur die eine Erklärung, daß auch die Fäulnisorganismen filtrierbare Stadien besitzen.

Diejenigen Röhrchen, die sich bei mehrtägigem Brutschrankaufenthalt nach 14 Tagen als steril erwiesen — es war fast immer die ganze Serie entweder steril oder verunreinigt —, wurden zu Versuchen herangezogen. Eine entsprechende Anzahl von Kontrollröhrchen blieb unbeimpft. Die Überimpfungen auf Agar und von dort nach 10 Stunden auf neue Röhrchen erfolgte alle 5 Tage. Zahlreiche mikroskopische Präparate klärten über die Vorgänge auf. Der hängende Tropfen versagte aus unerklärlichen Gründen. Es wurden jeweils 10—18 Passagen durchgeführt, wobei sich die früheren Ergebnisse des öfteren bestätigten und neue hinzukamen.

Daneben wurden gleiche Versuche mit Pyocyanase (Versuch XXV) und zur Ergänzung mit Ascitesflüssigkeit (Versuch XXVI), Gelatine (Versuch XXVII), — die Kulturen wurden im Brutschrank flüssig aufbewahrt — und mit Galle (Versuch XXVIII) gemacht, welche einige ergänzende Befunde lieferten. In gleicher Weise angesetzte Versuche mit physiologischer NaCl und destilliertem Wasser (Versuch XXIX) waren ebenfalls wichtig und gaben scharfe Unterschiede zwischen den echten und den Pseudomilzbrandbazillen.

Nachdem ich viele Erfahrungen gesammelt hatte, konnte ich im März 1926 nochmals das Schicksal der Milzbrandbazillen im toten Kadaver studieren (Versuch XXX). Vier Meerschweinchen, welche mit den Stämmen „Kehl“ und „Lutz“, und 2 Kaninchen, die mit Stamm Kehl geimpft waren, wurden, als sie sich auf die Seite legten, in Äthernarkose seziert, nachdem zuvor die ganze Bauchseite geschoren, enthaart und mit Jod bestrichen war. Steril entnommene Stücke von Leber, Milz und Herz wurden in Reagenzgläser und teilweise in Kölbchen gebracht, in denen sich verdünnte Bouillon oder Kochsalzlösung befand. Ein Teil der Kölbchen wird bei Zimmertemperatur, ein Teil im Brutschrank, weitere im Keller gehalten. Zahlreiche Kontrollausstriche aus den Tierkadavern zeigten reine Milzbrandkulturen ohne andere Organismen. Es werden täglich oder alle 2 Tage Präparate, hängende Tropfen zur Dauerbeobachtung und Agarausstriche gemacht. Die Befunde ergänzen die früheren Befunde in vielen Einzelheiten. Das Kriterium der Reinheit war für mich die fehlende Fäulnis.

Da bisher fast durchweg mit flüssigen Nährböden gearbeitet wurde — mit Ausnahme der Versuche I und II, so wurden nunmehr zum Studium der Veränderungen auch feste Nährböden herangezogen. Kolleschalen oder Küstersche Anaerobenschalen, die mit dest. Wasser gefüllt wurden, garantierten die lange Beobachtung ohne Austrocknung. Es wurde steril

filtrierte Faulflüssigkeit als 15—25% Zusatz zu Nähragar oder zu eiweißfreiem synthetischen Agar gebracht, die Schalen zunächst 14 Tage lang auf Reinheit geprüft und dann mit dem Sporenmaterial reiner Stämme „Lutz“ und „Kehl“ beimpft, ebenso mit frisch aus der Maus isolierten Kulturen, und die Überimpfungen in jeder der 8 Reihen 8—10 Passagen lang durchgeführt (Versuch XXXI). Parallel dazu gingen gleicher Art angesetzte Flüssigkeitskulturen (Versuch XXXII). Die Versuche dehnten sich vom Oktober 1926 bis zum März 1927 aus.

Die herausgezüchteten Kulturformen stimmten zum Teil mit den früher erhaltenen Formen überein, ihre Weiterentwicklung wurde in 100 verschiedenen Reihen auf den gewöhnlichen Nährböden verfolgt (Versuch XXXIII), teilweise auch in Bodenextraktflüssigkeit (Versuch XXXIV), auf 3% Lithiumchloridagar (Versuch XXXV) und auf 6% Kochsalzagar (Versuch XXXVI). Weiterhin wurde eine Form erhalten, die der von Buchner beschriebenen entspricht. Diese wurde in Mäusepassagen studiert, indem den Ausgangstieren (4 Reihen) sterilisierte Leinwandläppchen, welche mit Bouillonkulturen der genannten Wuchsform durchtränkt waren, unter die Rückenhaut geschoben wurden, worauf die 4 Ausgangskulturen von Tier zu Tier durch Schwanzwurzelimpfung übertragbar wurden (Versuch XXXVII). Weiterhin wurden mit dieser Wuchsform Versuche an Meerschweinchen angestellt (Versuch XXXVIII) und serologische Untersuchungen gemacht (Versuch XXXIX).

Da es sich gezeigt hatte, daß die Faulagarkulturen mit geringen Ausnahmen sporenfrei sind, wurden mit solchen asporogenen, sonst typischen Kulturen Mäuseversuche gemacht, die interessante Ergebnisse hatten (Versuch XL). Um festzustellen, ob dabei filtrierbare Formen gebildet werden, wurde folgende Versuchsanordnung gewählt (Versuch XLI):

Aufschwemmung der atypischen Agarkultur, frisch aus einer gestorbenen Maus „Kehl“ in NaCl-Lösung.	Filtrat 1	Filtrat 2	Filtrat 3
Aufschwemmung der atypischen Agarkultur, frisch aus einer gestorbenen Maus, „Lutz J“ in NaCl-Lösung.	Filtrat 1	Filtrat 2	Filtrat 3

Nach 6tägigem Stehenlassen bei Zimmertemperatur werden mit den Ausgangsaufschwemmungen und den Filtraten Mäuse geimpft und weiterhin die Filtrate mikroskopisch und kulturell verfolgt.

Da bei Fäulnis im Experiment fast nie Endosporenbildung stattfindet, wurden die Versuche, so gut es ging, natürlichen Bedingungen angepaßt. Garten- und Ackererde wurde im Autoklaven und durch Ausglühen sterilisiert, mit keimfrei filtrierter Bodenextraktflüssigkeit versetzt und diesen Nährböden folgende Zusätze gemacht (Versuch XLII):

Stamm „Kehl“:	1	2	3	4
	ohne Zusatz	mit keimfrei filtrierter Faulflüssigkeit	mit Bouillon	mit Bouillon und keimfrei filtr. Faulflüssigkeit.

Stamm „Lutz J"	1	2	3	4
	ohne Zusatz	mit keimfrei filtrierter Faulflüssigkeit	mit Bouillon	mit Bouillon und keimfrei filtr. Faulflüssigkeit.

Dasselbe wurde mit ausgeglühter Kieselgur durchgeführt; die Versuchsanordnung war die gleiche (Versuch XLIII). Die Versuche werden im Mai 1927 abgeschlossen.

Um die Wirkung des Fäulnisvorganges auf die Organismen zu beobachten, versuchte ich die Diffusion durch verschiedene Membranen (Versuch XLIV). Zunächst verwandte ich die Diffusionshülsen von Schleicher und Schüll Nr. 579, welche in Erlenmeyer-Kölbchen gestellt wurden. Nach der Sterilisierung der im Kölbchen und in der Hülse befindlichen verdünnten Bouillon wurde in die Kölbchen Faulorgan bzw. faulende Flüssigkeit gegeben, in die Hülsen Kulturen der Stämme „Kehl" und „Lutz J" eingeimpft. Es zeigte sich sofort, daß die Hülsen für Bakterien durchgängig sind. Deshalb wurden sie mit Kollodium ausgegossen. Auch dies nützte nichts. Weiterhin versuchte ich Kollodiumsäckchen und Fischblasen zu diesem Zweck zu nehmen; auch diese ließen Bakterien hindurch. Auf diesem Wege war also kein Ergebnis zu erzielen.

c) Technische Einzelheiten.

Die Anordnung der Versuche ist bereits beschrieben; hier müssen noch einige allgemeine Bemerkungen folgen: Die Herstellung einer Reinkultur hat stets mit einer Fehlerquelle zu rechnen; das sind die kleinsten Gonidien fremder Organismen, die sich überall anheften können. Sie können die Burrische Methode[1]) ebenso ungültig machen, wie die Resultate in filtrierten Lösungen. Hier hilft nur die ganz breite Anlage der Versuche und die kritische Einstellung, welche nur diejenigen Erscheinungen mit dem untersuchten Organismus in Verbindung bringt, welche sich nicht nur immer wiederholen, sondern auch den Kreislauf schließen helfen. Denn man überzeugt sich allmählich davon, daß die Veränderungen immer nur in ganz bestimmter Richtung erfolgen, so daß man ein klares Urteil erhält, ob Verunreinigungen vorliegen oder nicht. Allerdings scheint es, als ob die Gonidienformen aller Bakterien die gleichen Entwicklungsformen besitzen, und gerade hierfür haben wir noch kein Kriterium als das des zeitlichen Zusammenhangs: Wenn in einer Kultur mikroskopisch die Bildung zahlreicher Gonidien festgestellt ist, so kann man erwarten, daß in der darauffolgenden Zeit solche Organismen auch auf den Platten zu sehen

1) Die Burrische Tuschemethode, die vielfach als unbedingte Voraussetzung für Reinkulturen gefordert wird, hat aber noch andere Nachteile. Viele Organismen lassen sich nicht mehr fortzüchten. So kommt es, daß Trautmann, Bernhardt, Bärthlein (R. 57, 100*—103*) die Methode scharf kritisieren. Schon von den stark resistenten Organismen wie Coli (Barber 1907) oder Proteus (Fürst 1914) geht nur ein Bruchteil der Einzelzellen aus der Tuschemethode an. Und wenn man die ganz feinen Organismen isolieren will, so sind sie erstens sehr schwer zu sehen und zweitens überhaupt nicht mehr zur Vermehrung zu bringen. Weiterhin sind die Aussichten auf Verunreinigungen nicht zu unterschätzen.

sind, d. h. es entstehen entweder sehr feine Kolonien, in welchen sich diese Körper in sehr schlechter Teilung befinden, oder aber es entstehen bereits Regenerativkörper, welche Mikrokokkenformen nicht unähnlich sehen. Hier können vielfach dann serologische Methoden helfen.

Weitgehend muß hier auf die mikroskopische Beobachtung der Vorgänge zurückgegriffen werden, und was aus zeitlicher und technischer Unmöglichkeit nicht im hängenden Tropfen zu machen ist, muß durch in kurzen und regelmäßigen Abständen erfolgende mikroskopische Untersuchungen der Kulturen größten Umfanges festgestellt werden.

Bei der Bildung der Gonidienformen kommt es weder zu Knopfbildungen noch zu Segmenten, hier kann also nur die mikroskopische Beobachtung die nötigen Sicherungen geben. Beim Auswachsen der Gonidien aber, was teilweise sehr lange Zeit in Anspruch nimmt und vielfach von klimatischen Einwirkungen abhängig ist, wird die Bildung von Knöpfen und Segmenten in regelmäßiger Anordnung und in korrespondierenden Untersuchungen Klarheit bringen. Nur dadurch, daß man die Bedingungen soweit wie möglich variiert und stets von verschiedenen Gesichtspunkten immer wieder auf eine einzige Versuchsanordnung zurückkehrt, ist bei dem vielförmigen Gestalten überhaupt ein Urteil möglich. Weiterhin muß man jede Quelle eines Irrtums geflissentlich ausschalten. Nährböden, die aus bakterien- und gewebsreichen Medien hergestellt sind, müssen unbedingt filtriert werden, damit nicht tote Organismen, die sich vielfach ebenso färben wie die lebenden, falsche Ergebnisse bedingen, und wo man Gonidienmaterial vor sich hat, muß man oft sehr geduldig warten, bis man weiß, ob eine Kultur abgestorben ist oder ob es resistente Gonidien sind, die sich in einer Ruhepause befinden, bis irgendwelche, vermutlich klimatische Faktoren, sie zu neuen Umwandlungen anregen.

Zur Herstellung von Reinkulturen verwandte man vielfach Gußplatten. Diese Technik ist aber durch die Strichmethode meist verdrängt, denn diese, richtig ausgeführt, gibt insofern eine Garantie für die Reinheit der Platte, als nur auf den Impfstrichen Kolonien wachsen dürfen. Die Gußmethode hat aber noch den Nachteil umständlicherer Manipulationen, da durch das Mischen, Beförderung der vollen Öse und Ausgießen der Röhrchen die Gefahr der Verunreinigung vergrößert ist. — Sie hat aber den Vorteil der gründlichen Verteilung der Organismen durch sorgfältiges Verreiben an der inneren Glaswand. Diesen Vorteil gewährt auch die Strichplatte, wenn man Bouillonkulturen zum Ausstrich bringt; bei gutgewachsenen Bouillonkulturen mit „leerer" Öse. Ich habe jedenfalls bei eigenen Untersuchungen sowie bei zahlreichen Gußplattenverfahren unserer Laborantinnen, Doktoranden und Studenten die Erfahrung gemacht, daß die Strichplatten stets besser ausfielen als die Gußplatten. Bei beiden muß man erst lernen, die geeigneten Mengen zu verwenden; darin ist keine Methode im Vorteil.

Zum Generationswechsel führen vor allem starke Einflüsse von außen: Die Übertragung auf ganz andere Medien, rascher Temperaturwechsel der frisch mit Organismen beimpften Nährböden, was schon Schürmayer 1899 als besonders wirksam anführt, Überimpfung gut gewachsener Kulturen in Wasser üben einen anregenden Einfluß aus. Nach Enderlein

auch die Einwirkung direkten Sonnenlichtes. Henri (1914) hat mit gutem Erfolg ultraviolettes Licht verwendet. Große Mengen von Stoffwechselprodukten können die Bakterien frühzeitig töten. Nach Löhnis sind die überfütternden Substrate, die wir gewöhnlich im Laboratorium benutzen, unnatürlich und stören die Versuche. Auch höhere Salzkonzentrationen, mit welchen Matzuschita (1900) und Maaßen (1904) gearbeitet haben, sind wertvoll. Ph. Kuhn hat besonders die Lithiumchloridmethode ausgearbeitet. A. Fischer hat schon 1891 angenommen, daß durch ein Anwachsen des Salzgehaltes im Nährboden viele Bakterien zur Sporenbildung veranlaßt werden können, die sonst nicht dazu neigen. Löhnis meint (S. 99), daß eine höhere Salzkonzentration im Agar den gleichen osmotischen Effekt besitzt wie die Austrocknung, und daß es daher leicht verständlich sei, warum in den Bildern, welche Matzuschita und Maaßen von ihren Salzkulturen geben, verschiedene Phasen im Kreislauf der Organismen dargestellt seien. Die Bilder seien keineswegs seltsame und unwichtige teratologische Wachstumstypen, wie Maaßen annimmt, sondern stellen interessante Phasen des Kreislaufs dar.

Viele Stämme verhalten sich so konstant, daß Abänderungen nicht erzielt werden können, andere dagegen sind wieder tiefgehenden Veränderungen zugänglich. Bernhardt (Z. H. 79) hat von 13 typischen Cholerakulturen 7 labil gefunden, während sich die anderen sehr hartnäckig verhielten. In meinen Versuchen habe ich ebenfalls sehr bald sämtliche Pseudo-Milzbrandstämme weggelassen, weil sie nur schwer und viel weniger ausgesprochen zu beeinflussen waren als die virulenten Milzbrandstämme.

Schwierig ist die Entscheidung über Veränderungen im Gewebe, und zweifellos sind hier ganz besonders starke Umwandlungsvorgänge vorhanden. Ich habe mir manchmal die Frage vorgelegt, ob die bei meinen Milzbrandmäusen gefundenen Vorgänge nicht ebenfalls einem vollständigen Kreislauf entsprechen, indem sich hier ebenfalls Gonidien und Gonidangien bilden; aber es ist sehr schwer, mit exakten Versuchen an solche Erscheinungen heranzugehen, weil z. B. im Milz- und Lebergewebe scharfe Unterscheidungen kaum möglich sind (z. B. zwischen Gonidien und Zellen-Granulis). Unsere Kenntnisse sind hier in bakteriologischer Hinsicht noch nicht umfassend genug.

Es liegen mehrfache Beobachtungen vor, welche zu den gewagtesten Schlüssen geführt haben, so zur Behauptung, daß aus den Gewebszellen, insbesondere den Blutkörperchen, Bakterien entstehen (vgl. Fokker, Versuch einer neuen Bakterienlehre, 1907).

Die Entscheidung, welche Methode im einzelnen Fall anzuwenden ist, hängt ganz von der Anlage des Versuchs ab. Man kann nur kleine Ausschnitte dieser umfangreichen Entwicklung gelegentlich im hängenden Tropfen beobachten. Das haben schon die ersten Verfechter (Rindfleisch, Klebs, Cienkowski, Zopf u. a.) des Pleomorphiegedankens getan. Weit wichtiger erscheint mir die Anlegung möglichst ausgedehnter und passend angelegter Parallelversuche, denn man kann im hängenden Tropfen nicht alle Bedingungen nachahmen, die in der Kultur zu erzielen sind.

Wenn weit über 1000 Forscher — fast immer unabhängig voneinander — bei den verschiedensten Organismen die gleichen Vorgänge in einzelnen Ausschnitten finden, und wenn ich selbst anläßlich einer Besprechung mit Herrn Professor Löhnis in Leipzig, wobei ich etwa 200 Lichtbilder vorlegte, fast alle meine Befunde als Analogien zu Befunden an anderen Organismen bestätigt erhielt, so muß dies den sicheren Schluß zulassen, daß solche Veränderungen wirklich vorhanden sind. Daß sie nicht häufiger gefunden werden, liegt daran, daß sie nicht gesucht werden.

III. Die Kreislaufformen.

Die Darstellung der Ergebnisse meiner Untersuchungen macht einige Schwierigkeiten. Sie der Reihenfolge nach abzuhandeln, ist nicht möglich; es fehlt der Raum, und die Beschreibung wäre ebenso verworren wie die Erscheinungen, welche mir zunächst entgegentraten. Ich muß deshalb den Stoff so anordnen, wie er sich mir später darstellte, als ich ein umfassenderes Bild gewonnen hatte und als viele Einzelheiten sich in die zunächst lückenhaften Wahrnehmungen und Vorstellungen eingeschoben hatten.

Da ich im Laufe meiner Untersuchungen vom Vorhandensein eines Bakterienkreislaufes völlig überzeugt wurde, beschreibe ich nun die einzelnen Phasen dieser Entwicklung, wie sie jetzt als abgerundetes Bild vor mir liegen.

a) Die Bildung der großen grampositiven Gonidienformen.[1])

Schon in normalen Kulturen kann man da und dort Kugelformen sehen, welche an die Fäden und Milzbrandketten unregelmäßig angelagert sind oder sich auch frei im mikroskopischen Bild der Reinkultur befinden. So sind auch die Bilder, welche Robert Koch gibt, nicht absolut rein, es finden sich deutlich solche Gonidien (Abb. 1 und 2; diese sind Reproduktionen der Bilder von Robert Koch, 1877, Tafel XVI, und 1881, Tafel VI, Abb. 33). Verfolgt man nun die Bildung solcher Gonidienformen, so kann man sehen, daß sie auf die verschiedenste Art und Weise zustande kommen. Abb. 3 zeigt deutlich, wie sie an irgendeiner Stelle des Milzbrandstäbchens als kleine Auswüchse entstehen können (Günther, Bakteriologie 1906) und dann teilweise ziemlich große Formen annehmen (Abb. 4). Diese Art der Bildung ist nicht häufig und ist nur dort zu sehen, wo durch den Einfluß der Faulflüssigkeit die Endosporenbildung gehemmt ist.

Eine zweite Art der Bildung geht aus Abb. 5 hervor: Am Ende einer kurzgliedrigen Milzbrandkette entsteht die Längsteilung eines Stäbchens; während der eine Schenkel weiter wächst und sich allmählich so verdickt, daß er mit der ursprünglichen Kette ein gleichförmig zusammenhängendes Band bildet, bleibt der andere Schenkel in der Weiterbildung zurück und teilt sich gewöhnlich in zwei Kugelformen, welche dann unregelmäßig

1) Ich gebrauche hier mit Löhnis und Enderlein den Begriff „Gonidie". Almquist spricht von „Konidien". Der erste Ausdruck ist aber der ältere (Cohn, 1870) und entspricht mehr den Eigenschaften (γόνος = Zeugung, das Junge; κόνις = Staub), allerdings bedeuten die Gonidien der Bakterien und die Konidien der höheren Pilze biologisch wohl das gleiche.

an den Milzbrandketten zu finden sind. Ähnlich ist die Teilung in Abb. 6, wo sich plötzlich ein plumpes Stäbchen quer in den Verlauf der Kette legt und dann in zwei Kugeln zerfällt. Solche Doppelkugeln findet man vielfach am Ende einer Kette, weil das andere Kettenstück abgetrennt wird. Ferner können im Verlauf einer Kette plötzlich einige Kugelformen eingeschaltet sein, welche dann herausfallen und frei im Präparat zu finden sind.

Weit größer ist aber die Bildung solcher kugeligen Formen dort, wo steril entnommene Milzbrandorgane in Kochsalzlösung gegeben werden (Versuch VIII). Hier findet man, daß die Scheide sich völlig auflöst und die Kugelformen ohne jeden Zusammenhang sind. Die Scheide ist zunächst noch schwach sichtbar (Abb. 7), dann löst sie sich auf, der Zusammenhang der Kugeln ist nur noch durch Lagerung zu erkennen (Abb. 8), und später liegen die Gonidien unregelmäßig durcheinander. Dasselbe findet sich auch im tierischen Organismus, wenn man die Milzbrandkadaver weiter verfolgt (Abb. 9). Deutliche Bilder liefern auch die Pyozyanaseversuche (Abb. 10). Oft kann man in Milzbrandkulturen auf gewöhnlichem Nähragar, die schon etwas älter sind und direkt aus den Milzbrandtieren ausgestrichen wurden, sehen, daß die Glieder sehr kurz werden und die Ketten an den Enden sich merkwürdig einrollen. Manchmal erhält man Kulturen, die nur aus eingerollten, kurzgliedrigen, kürzeren Ketten bestehen. Es bilden sich aber auch vielfach richtige Dolden, indem die eingerollten Kettenstücke miteinander zu einer ziemlich homogenen Masse verschmelzen und auf diese Weise große Kugeln bilden, die nach kürzerer Zeit wieder in kugelige Körper zerfallen (Abb. 11). Man kann sie als Gonidangien auffassen.

In diesen Bildern treten gleichzeitig aber auch noch andere Veränderungen auf. Die einzelnen Kettenglieder fangen an, sich stark aufzublähen (Abb. 12, 13, 14), um allmählich runde Kugeln zu bilden (Abb. 15), die die Dicke der Milzbrandstäbchen sehr stark überragen. Sie wachsen noch weiter an und sind dann freie große Kugeln, die Löhnis Gonidangien genannt hat (Abb. 16, 17 und 22)[1]. Diese Gonidangien erhielt ich nach 2 Agarpassagen mit Material aus Mäusen, die mit asporogen gewordenen Wuchsformen von Stamm „Kehl“ und Stamm „Lutz J“ geimpft worden waren. Sie sind entweder stark grampositiv oder nehmen ein ganz merkwürdiges Dunkelrot durch die Fuchsin-Nachfärbung an, sie sind zunächst kreisrund und besitzen etwa 2 μ Durchmesser. Nach einigen Tagen aber zerfallen sie in kleinere grampositive Kugelformen, wie aus Abb. 18, 19, 20 und 21 hervorgeht. Diese Gonidangienformen zeigen alle Übergänge zu den vorher erwähnten Doldenbildungen (Abb. 11). Ganz vereinzelt konnte ich in solchen Fällen auch die Bildung ganz großer Elemente sehen, die mit den von Löhnis beschriebenen runden Symplasmen übereinstimmen dürften[2]). Es finden sich ziemlich runde Gebilde

1) Schon 1884 von Toussaint bei Milzbrand gesehen, zitiert nach Löhnis, S. 125.

2) Lankester bildet 1876 solche „Makroplasten“ von Sulfurbakterien ab (s. Löhnis, Tafel XVI, Abb. 209). Sie sind mehrfach, bei verschiedenen Organismen gefunden worden.

von etwa 15 μ Durchmesser, die keine scharfe Grenzlinie besitzen und im Innern gramschwankende, kugelige bis ovale Gebilde zeigen (Abb. 23). Sie scheinen ebenfalls in Gonidien zu zerfallen.

Löhnis gibt an, daß die Keulenbildung ebenfalls die Bildung von Gonidangien darstellt, doch habe ich wohl Keulen (Abb. 24), aber nie den Zerfall derselben gefunden. Außerdem ist die Verzweigung nach Löhnis der Bildung seitlich sprossender Gonidien gleichzusetzen. Abb. 25 und 26 stellt Verzweigungen vom Stamm „Lutz J" dar. Sie wurden in Faulflüssigkeit gewonnen. Weiterhin konnte man teilweise merkwürdige Knieformen sehen, die vielleicht auch eine ähnliche Bedeutung haben. —

Diese an sich ziemlich verschiedenen Möglichkeiten der Gonidienbildung wurden überall gefunden, wo die Endosporenbildung ernstlich gestört war. Entweder fanden sich nur noch ganz wenige Milzbrandstäbchen, welche Sporen bildeten (diese Frage wurde nur auf festen Nährböden geprüft, weil die Spore zu ihrem Entstehen Sauerstoff haben muß) oder aber es fehlt die Sporenbildung völlig. Die sporenbildenden Stäbchen haben dabei stets noch eine scharf umschriebene Form, während die sporenfreien vegetativen Formen sowohl in ihrer Gramfestigkeit wie in ihrer inneren Struktur vielfach sehr weitgehend verändert sind. Die Bildung solcher Gonidien findet vor allen Dingen statt bei jeder Fäulnis und bei der Einwirkung von Pyozyanase. Auch relativ geringe Mengen von filtrierter Faulflüssigkeit führen zu ihrer Bildung, man muß nur Geduld haben.

b) Die Bildung der feinen gramnegativen Gonidienformen.

Die Wirkung des Filtrates alter Kulturen, zu neuen Nährböden zugesetzt (Versuche I—IV), besteht zunächst in einem äußerst üppigen Wachstum der Kultur. Schon von der ersten Passage ab ist diese üppig, wulstig, aber immerhin noch sahnig. Bei weiteren Passagen werden die Kulturen leicht schleimig, und gleichzeitig hört ihre feste Kohärenz auf, indem man mit der Öse sehr leicht kleinste Mengen Material abnehmen kann, welches im mikroskopischen Präparat noch typische Milzbrandbazillen zeigt, deren Kettenverband aber schlecht ist. Gleichzeitig sah ich, daß eine größere Anzahl sehr feiner gramnegativer Elemente in Häufchen gelagert vorhanden war, deren Herkunft ich mir zunächst nicht erklären konnte. Ich nannte sie zunächst „Influenzatyp", aber sie waren nur etwa $0{,}2 \times 0{,}4\,\mu$ groß und ließen sich zunächst ganz gut färben. Sie traten auf im Versuch I von der 5. Passage ab, im Versuch II und III von der vierten und im Versuch IV von der dritten Passage ab, und nach zwei weiteren Passagen war es mir möglich, auch die Bildung dieser Form zu sehen. Abb. 27 u. 28 zeigen, wie die Milzbrandfäden an manchen Stellen quellen, den feinen Inhalt entleeren und viele leere Scheiden zurücklassen. Dasselbe erhielt ich späterhin auf Kieselgurnährböden (Versuch XLIII). Weiterhin beobachtete ich die Bildung der gleichen Formen in den Zwischenräumen zwischen 2 vegetativen Milzbrandstäbchen (Abb. 29), und zwar wiederum auf Kieselgurnährböden und in den Gelatinepassagen (Versuch XXVII). Im Dunkelfeld konnte ich vereinzelt das Austreten dieser Körperchen aus den Zwischenräumen zwischen den vegetativen Stäbchen

feststellen und weiterhin sehen, daß sie eine deutliche Eigenbewegung besitzen. In Abb. 30 sieht man ein solches Körperchen gerade beim Heraustreten. Abb. 31 zeigt eine massenhafte Produktion solcher feinster Körperchen aus den Zwischenräumen zwischen je zwei vegetativen Zellen. Diese feinen Formen werden auch einzeln in den zerfallenden Milzbrandfäden gebildet, sie sind dann meist etwas größer, als sie soeben geschildert wurden.

c) Körniger Zerfall.

Im Tierkörper, aber auch in Faulflüssigkeitkulturen sieht man vielfach, daß sich die Gramsubstanz innerhalb des vegetativen Milzbrandstäbchens zu granulären Gebilden auflöst, die entweder auf bestimmte Stellen des Stäbchens verteilt werden (Abb. 32) oder in feinsten Auswüchsen rings um die Zellen an der äußeren Zellwand angelagert werden. Sie verlassen dann bei der völligen Auflösung der Zelle ihre Stellung und flottieren als feinste Granula frei in der Flüssigkeit. Sie haben eine sehr starke Molekularbewegung, sind exquisit gramfest und waren beim Filtrieren im Filtratnicht zu finden, vermutlich, weil sie stark adsorbiert werden. Über ihr Natur habe ich keine weiteren Untersuchungen angestellt, ebensowenig über die interessanten Löcherbildungen, die dem d'Herelleschen Phänomen sehr ähnlich sind, und die sich in den Filtratagarpassagen I bis IV zeigten (Abb. 46 und 47). Sie traten nur jeweils in der dritten oder sechsten Passage auf; ihre mikroskopische Untersuchung ergab ausgesprochen granulären Zerfall[1]).

H. v. Preiß (Fischer, Jena 1925) hat über solche Zustände mikroskopische Untersuchungen gemacht. Es können die „taches vierges" vielleicht weitgehende Beziehungen zur Symplasmabildung haben, von welcher später gesprochen werden soll. Gerade daß vor Auftreten dieser Erscheinung die Kolonien sehr stark wachsen und die im Bereich der „taches" befindlichen Bakterien Veränderungen durchmachen, welche als Gonidienbildung gedeutet werden können, macht es wohl möglich, daß hier eine Symplasmabildung stattfindet, was für die Autolysetheorie sprechen würde. Andererseits ist die unbegrenzte Übertragbarkeit auf vollständig lebensfrische Kulturen etwas, was mit der Symplasmabildung wohl nicht in Übereinstimmung zu bringen ist. Es liegen Arbeiten vor, welche eine scharfe Trennung zwischen dem d'Herelleschen Phänomen und den Pseudolöchern durchführen, so daß die letzteren mit größerer Wahrscheinlichkeit als Symplasmabildungen anzusprechen sind. Aber wenn man den Beweis der parasitären Theorie des d'Herelleschen Phänomens darauf stützen will, daß die Mikroorganismen erkranken, indem sie ganz abnorme Wuchsformen (Zellzerfall, gedunsene und gequollene Formen, Fadenformen, Verästelungen) zeigen und sich in ihrer Färbbarkeit verändern, so ist dies unzulässig, weil wir eine solch tiefgreifende Veränderung vielfach gerade bei der normalen Gonidienbildung vorfinden.

Die Bildung höherwertiger Phagenteilchen, die v. Preiß (S. 49, 50) beschreibt, die zarten Ausläufer auf der Agarfläche (S. 65) und die in den Löchern verschont gebliebenen, oft sehr üppigen Kolonien (S. 38 und 47) würden sehr für Regenerativeinheiten im Sinne von Löhnis sprechen. Vgl. die Theorie der Verlustmutanten (= funktionell tätig gebliebenen Teilchen der Bakteriensubstanz).

---

1) Vgl. Pesch, O. 93, 525; Katzu, O. 96, 281. Beiden mißglückte der Nachweis eines Bakteriophagen. Auch Brown und Basaca fanden nur den Pseudobakteriophagen (R. 84, 324). Lemos Monteiro (R. 81, 569) scheint einen echten Phagen bei Milzbrand gefunden zu haben.

Die granuläre Dekomposition ist von Pfeiffer (1894, Z.H. 18, 1) und von Pfeiffer und Kolle (1896, Z.H. 21, 203) studiert worden. Das von ihnen erhaltene Resultat, daß sie ausnahmslos mit dem Absterben der Bakterien einhergehe, konnte in der Folge nicht bestätigt werden (Cantacuzène, A. P. 12, 272; Kohlbrugge, O. 28, 833 und O. 30, 689 u. a.). Die Vermehrung durch Zellteilung verzögert sich auch hier manchmal stark, so daß man oft 14 Tage oder länger im Zweifel sein kann, ob ein Absterben erfolgt ist. Hebt man sich aber die ausgestrichenen Nährböden für Monate auf und schützt sie vor Austrocknung, so kann man manchmal einen feinen Kulturrasen im Impfstrich entstehen sehen. Dieser wird vom Unkundigen leicht übersehen. Solche Verhältnisse fand ich vielfach bei meinen Versuchen mit Pyozyanase, Ascites und Wasser (Versuch XXV, XXVI, XXIX) und in keimfrei filtrierten Fäulnisstoffen (Versuch XXIV). Es setzte hier die Gonidienbildung in solch umfassender Weise ein, indem alle Zellen der Kultur sich im mikroskopischen Bild an ihrer Erzeugung beteiligten, daß keine vegetative Zelle mehr sich durch Spaltung vermehrte. Da die neugebildeten Gonidien sich noch nicht vermehren konnten, indem sie vielleicht eine Reifezeit nötig haben, so blieben die ausgestrichenen Platten zunächst steril und täuschten ein Absterben vor. Im mikroskopischen Bild sieht man neben der Abgabe der Granula von der Oberfläche der Mutterzelle die Erscheinungen, welche A. Fischer 1900 als Plasmolysis, d. h. Auflösung des Zellplasmas, und als Plasmoptysis, d. h. Ausstoßung von Leibessubstanz aus den Zellen, angegeben hat.

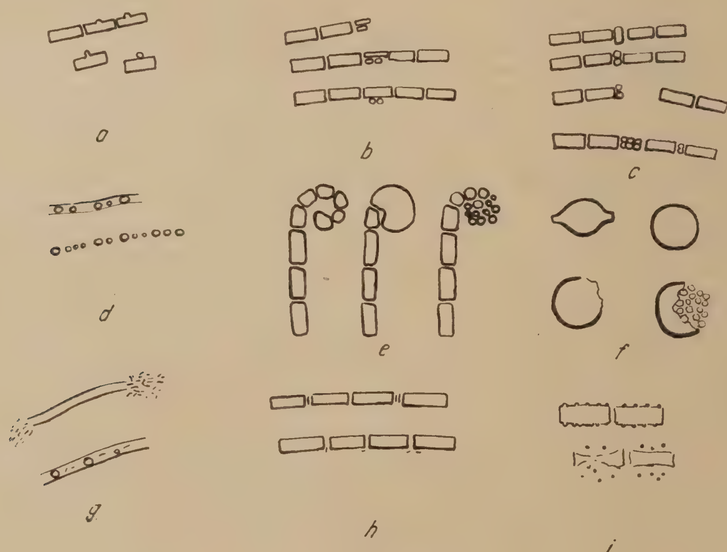


Abb. 1.
Zusammenstellung der verschiedenen Arten von Gonidienbildung.
a—*d*: Bildung der großen grampositiven Gonidien (direkt); *e* und *f*: Bildung der großen grampositiven Gonidien auf dem Weg über ein Gonidangienstadium; *g* und *h*: Bildung der gramnegativen feinen Gonidien; *i*: granuläre Dekomposition.

d) Die Züchtung der Gonidienformen.

Erst wenn die Gonidienbildung sich im Präparat in erhöhtem Umfang bemerkbar macht, ist Aussicht auf die Züchtung dieser Wuchsformen vorhanden. Aber auch dann gelingt sie oft erst nach 1—2 Wochen, indem vermutlich eine Ruhephase oder eine Reifungszeit von bestimmter Dauer ihre Vermehrung durch Teilung und damit ihr Sichtbarwerden auf den Nährböden verhindert. Erst nach dieser Zeit erscheinen auf gewöhnlichem Nähragar feine bläulich durchscheinende Kolonien, die zunächst $^1/_{10}$—$^1/_4$ mm Durchmesser besitzen. Beide Formen verhalten sich ganz verschieden.

1. Die Kultur der feinen gramnegativen Gonidienformen besitzt geringe Lebenskraft und geht entweder in feine bläuliche Kolonien von $^1/_4$—$^1/_2$ mm Durchmesser über oder läßt sich nicht mehr fortzüchten. Die Kolonien sind glattrandig, ohne Struktur (Abb. 33) und bestehen aus sehr feinen, schlecht färbbaren, kurzen Stäbchenformen von etwa 0,2 μ Dicke und 0,5 μ Länge (Abb. 34), später bis 1 μ Länge.

Die feinen Rasen können konfluieren und feucht glänzen.

Die Stäbchen sind beweglich, torkelnd, mit deutlicher, wenn auch nicht rascher Ortsveränderung. Sie wachsen nicht auf Gelatine und säuern schwach Dextrose, während sie die anderen Zuckerarten unangegriffen lassen. In Bouillon bilden sie feinste Trübungen. Sie gehen durch Kieselgurfilter. Sie zeigen noch Pathogenität[1]), indem sie in der ersten Kultur Mäuse nach 23—25 Stunden töten. Im Milzausstrich findet man uncharakteristische Bazillen, die auf der Platte echte Milzbrandformen liefern. Von den feinen Stäbchen ist nichts mehr zu sehen. — Hat man aber die Gonidien über mehrere Platten gesandt, so haben sie ihre Pathogenität verloren. Ebenso fehlt dann die anfangs vorhandene Thermopräzipitation auf präzipitierendes Milzbrandserum.

2. Die Kultur der großen kugeligen grampositiven Gonidienformen zeigt größere Lebenskraft und hat viel Ähnlichkeit mit feinen Streptokokkenkulturen (Abb. 35, 36). Die Kolonien sind zackig und besitzen 0,2 mm Durchmesser. Die Gonidien scheinen sich nur in einer Richtung zu vermehren, sie wachsen als kleine grampositive Ketten (Abb. 37), die sich aber bald strecken (Abb. 38). Sie bleiben nicht in dieser Anordnung, sondern erhalten eine Lagerung, wie wir sie bei den Mikrokokken gewohnt sind (Abb. 39), unterscheiden sich aber von diesen durch ziemliche Unregelmäßigkeit in Lagerung, Färbung, Form und Größe. Die Kolonie wird kreisrund, stark gekörnt und besitzt 0,2—0,3 mm Durchmesser (Abb. 40). Die Organismen sind unbeweglich, wachsen auf Gelatine sehr fein und säuern Dextrose. In Bouillon feiner Bodensatz, sonst ist sie klar. Sie gehen nicht durch Kieselgurfilter[2]) und zeigten nur einmal Pathogenität (erste Kultur) unter Rückkehr zur typischen Milzbrand-

---

1) Diese Tatsache ist schon 1883 von Archangelski (Centr. f. d. med. Wissensch. 21, 257) für Milzbrand angegeben worden.

2) Im Gegensatz zu den feinen Gonidienformen. Es liegen zweifellos auch bei Milzbrand filtrierbare Stadien vor, die schon bei einer Reihe von Bakterien gefunden wurden, aber nicht immer sind die Gonidien fein genug.

stäbchenform. Die Thermopräzipitation auf präzipitierendes Milzbrand serum war schwach positiv.

e) Die Bedeutung dieser Gonidienformen.

Es war mir merkwürdig erschienen, warum zwei Formen von Gonidien gebildet werden, die sich scharf voneinander unterscheiden. Zwar bildeten sich in Fäulnis fast nur die großen Gonidien, in den eigenen Stoffwechselprodukten standen die feinen Gonidien im Vordergrund, so daß man annehmen konnte, daß es sich nur um Modifikationen ein und derselben Funktion handelte. Doch spricht dagegen, daß man in einem einzigen Faden beide Formen nebeneinander finden kann (Abb. 41).

Aus meinen Untersuchungen ist auch folgendes Protokoll interessant: 8. 6. 26. Ein Kaninchen, das mit feinen abgetöteten Gonidienformen mehrfach vakziniert worden war, stirbt nach der ersten Injektion nicht abgetöteter Aufschwemmungen dieser Gonidien plötzlich an typischem Milzbrand. Die Reinkulturen lieferten nur echte Milzbrandkulturen, die feinen Stäbchengonidien fehlten. — Sofort nach dem Tod wird die Milz und ein Leberstück steril entnommen, in Kochsalzlösung gegeben, und es gelingt, die 4 Kölbchen zwei Monate lang fäulnisfrei zu halten. Die Ausstriche auf Agarplatten hatten folgendes Ergebnis:

9. 6. Milzbrand, Reinkultur.
11. 6. Ebenso.
14. 6. Milzbrand und Kolonien der feinen Gonidienformen (vereinzelt).
16. 6. Milzbrand und Kolonien der feinen Gonidienformen (in großer Zahl).
22. 6. Vereinzelte Milzbrandkolonien in Reinkultur.
30. 6. Vereinzelte Milzbrandkolonien und vereinzelt Kolonien der großen Gonidienformen.
9. 7. Vereinzelte Milzbrandkolonien, in großer Zahl Kolonien der großen Gonidienformen.
22. 7. Ebenso.
24. 7. Nur Kolonien der großen Gonidienformen.

Es gelingt somit in einer einzigen Versuchsanordnung, die Bildung beider Gonidienformen zu erzielen. Wenn man die Figur 3 von Crenothrix polyspora Cohn, welche Rullmann in L. 20 gibt (Abb. 42 meiner Aufnahmen) genauer betrachtet, so sind hier ebenfalls beide Formen vorhanden. Ferner zeigen Hiltner und Störmer bei Bact. radicicola beide Gonidienformen, vgl. Löhnis, Tafel XV, Abb. 195.

Die Frage lag nahe, ob es sich hier um geschlechtliche Vorgänge[1]) handle. Die Prüfung auf Konjugation zwischen der ruhenden großen Gonidienform und der kleinen beweglichen Gonidienform wurde im hängenden Tropfen in allerlei Nährflüssigkeiten und bei verschiedener Reaktion und Temperatur durchgeführt, und nachdem die Vereinigung der Gonidien des gleichen Stammes versagte, auch kreuzweise zwischen verschiedenen Stämmen ohne Erfolg versucht. Auch erwies sich die mir zur Verfügung stehende einfache mikroskopische Optik als zu wenig ausreichend, genauere Einzelheiten zu sehen, ganz zu schweigen von den Beobachtungen, die Enderlein über die Konjugation beschreibt. Sollten solche Vorgänge wirklich vorhanden sein, so finden sie möglicherweise nur zu ganz bestimmten Zeiten statt, wie es z. B. von den Algen bekannt ist,

---

1) Enderlein unterscheidet Oit und Spermit; ein sexueller Dimorphismus wurde schon 1882 von Haberkorn, 1885 von Ferran, 1889 von Dowdeswell, 1906 von Perrin, 1907 von Prowazek, 1912 von Mac Donagh bei Choleravibrionen und Spirochäten angenommen. Vgl. Löhnis, S. 203. Fuhrmann zieht Parallelen zu den Zygosporen der höheren Fungi (L. 16, 309).

daß sie ihre Sporenentleerung nur innerhalb eines halben Monats im Jahr zu ganz bestimmter Tageszeit durchführen (Hartmann). An Stelle aussichtsloser mikroskopischer Beobachtungen versuchte ich deshalb, diese Frage auf andere Weise zu lösen, indem ich homologe und heterologe (Gonidienformen verschiedener Stämme) Mischungen in flüssigen Nährböden der verschiedensten Zusammensetzung mehrere Monate bei Zimmertemperatur und im Keller aufbewahrte und gelegentlich durch Ausstrich und mikroskopische Betrachtung untersuchte. Die Ergebnisse waren jedoch nicht anders als in den einfach geimpften Kontrollen, wo sich ebenfalls Veränderungen abspielten, die im nächsten Abschnitt zu behandeln sind; denn diese umfangreichen Anordnungen gaben mir gleichzeitig die Gelegenheit, Erfahrungen über das weitere Schicksal der Gonidienformen zu sammeln.

Gleichzeitig legte ich in entsprechender Weise Kreuzungsplatten an, indem ich beide Formen senkrecht zueinander ausstrich und die Kreuzungsstellen besonders genau beobachtete. Bei 60/1 sieht man, daß die großen Gonidienformen sternförmige Kolonien innerhalb der anderen Kolonieart bilden (Abb. 43). Klatschpräparate schienen zunächst keinen besonderen Befund zu liefern. Aber bei späterem Durchmustern fanden sich Verschmelzungen einer größeren Anzahl von Organismen, und zwar immer an der Grenze zwischen den großen und den feinen Gonidienformen (Abb. 44 und 45). Wenn aus solchen Verschmelzungen (dem symplastischen Stadium von Löhnis) wirklich regenerative Einheiten hervorgehen, wie Löhnis auf Grund umfangreicher Studien annimmt, dann ist hier zweifellos die Verschmelzung von unabsehbarer Bedeutung für die Frage der Kreuzung von Organismen derselben Art und für die Frage der Mutation[1]). Ich selbst fand leider keine Möglichkeit, das Symplasma isoliert weiter zu verfolgen, da mir bisher ein Mikromanipulator nicht zur Verfügung steht, ohne den meines Erachtens eine solche Frage nicht mit Sicherheit entschieden werden kann. Denn immer sind es nur Teile einer Kultur, die in den amorphen Zustand einrücken, und um das Symplasma weiterhin zu verfolgen, ist die Isolierung unbedingt nötig.

Makroskopisch waren an den Kreuzungsstellen wohl Veränderungen zu finden, aber sie waren nicht anders als in den einfachen Strichen, von diesen weiteren Umwandlungen soll im nächsten Abschnitt berichtet werden.

f) Die Rückwandlung der Gonidienformen in vegetative Formen und in die Ausgangsform.

Woher es kommt, daß die Gonidienformen da und dort in einzelnen Röhrchen plötzlich in die echte Milzbrandform zurückschlagen[2]), die voll-

1) Fokker, welchen Löhnis in diesem Punkt anerkennt (S. 187), sagt: „Wo sich in einer indifferenten Flüssigkeit eine einzige Mikrobenart vorfindet, entstehen nach der Dissoziation Mikroben der gleichen Beschaffenheit. — Wo sich aber zwei oder mehrere Arten vorfinden und die dissoziierten Plasmata sich vermischen, können sich aus diesem Gemisch Mikroben bilden, die die Eigenschaften der ursprünglich anwesenden in sich zu einer Einheit kombinieren, also von jeder der eingesäten einzelnen Arten verschieden sind.“ — Vorderhand ist aber hierfür noch nicht der geringste Beweis geliefert.

2) Schon 1884 von Toussaint gesehen, Löhnis, S. 130.

virulent ist und von der Ausgangskultur sich nicht unterscheidet, das andere Mal — und das ist viel häufiger — eine ganz langsame Aufwärtsentwicklung über die verschiedensten Formen durchmachen, läßt sich nicht sagen. Die Rückverwandlung ist derart unberechenbar und vielfach abhängig vom Medium, daß diese Versuche nur auf breitester Grundlage zu einem befriedigenden Resultat führen. Besonders scheint mir bei starken Witterungsumschlägen etwas zu erhoffen; ferner leisten Bodenextraktflüssigkeit, Vegetabilien, Säure und Kälte gute Hilfe. Auch sind gerade hier die von Matzuschita, Maaßen und Kuhn verwendeten Kochsalz- und Lithiumchloridnährböden gute Hilfen, um die teilweise sehr stabilen Zwischenstadien zu raschen Veränderungen anzuregen[1]). Vor allem ist geduldiges Beobachten nötig.

Für das Verständnis dieser allmählichen Aufwärtsentwicklung bieten die Ideen Enderleins gute Stützen, wenn auch die Frage des Urkerns und der Kernteilungen erst bestätigt werden müssen. Aber ich fand so viele Übereinstimmungen, daß ich vielfach darauf zurückgreifen werde.

Jede der beiden Gonidienformen zeigt eine besondere Aufwärtsentwicklung, da und dort bilden sich aber Übergänge. Alle laufen auf eine Form hinaus, welche Buchner beschrieben hat und die damals infolge mangelhafter Technik von R. Koch abgelehnt wurde. Ausdrücklich verwahrt sich aber R. Koch dagegen, daß so etwas unmöglich sei. Von dieser forma Buchneri findet sich dann ab und zu der sprunghafte Übergang zur forma typica.

1. Die Rückwandlung der grampositiven großen Gonidien. Schon sehr bald sieht man in den feinen Kolonien, daß die runden Formen ganz unregelmäßige Durchmesser annehmen, es bilden sich größere und kleine Kugelformen, die Löhnis Regenerativkörper nennt und die in Abb. 48 zu sehen sind; dann strecken sich die Zellen allmählich (Abb. 49), und zwar vielfach innerhalb einer schleimigen „Symplasma"zone, wobei wiederum nicht festgestellt werden konnte, ob dieser Bildung eine amorphe Phase vorausgeht. Man sieht auch vielfach die Streckung ohne Symplasma. Die Stäbchen werden immer dicker und prägnanter in der Zeichnung, indem sie deutlich Bazillengestalt annehmen (Abb. 50). Gleichzeitig werden die Kulturen getüpfelt, wie wir es beim Bazillus subtilis zu sehen gewohnt sind („morulaartige Zeichnung"). Besonders stark befördert Lanolin als C-Quelle die Sporenbildung.

Die Entwicklung kann auch anders verlaufen. Die Kugelformen bilden weißliche, üppige Kolonien, deren Randzone zunächst glatt ist, die aber dann fein gestrichelt wird unter gleichzeitigem Undurchsichtigwerden des Zentrums (Abb. 51), die Randzone wird allmählich zackig (Abb. 52) und nimmt dann bazillenartige Struktur an (Abb. 53 und 54). Gleichzeitig gehen die Kugelformen in schöne lange Bazillenformen über (Abb. 55 und 56), die in ihrer Dicke wechseln können (Abb. 56 und 57). Vielfach bilden sich dann Sporenformen, die entweder erneut den gleichen Kolonietypus geben oder in die typischen Milzbrandformen hinüberführen.

1) Die ersten Veränderungen der feinen Gonidienkolonien sieht man am deutlichsten in Schrägagarröhrchen, und zwar am Kondenswasserrand. Enderlein sieht gerade hier am häufigsten geschlechtliche Vorgänge.

Es kommt aber vor, daß die Kugelformen zu kräftigen, halbkugeligen, porzellanweißen Kolonien auswachsen und dann sehr stabil sind. Sie unterscheiden sich so gut wie nicht von Mikrokokkenkolonien und können ganz plötzlich gelbe Farbstoffbildung annehmen, aus der sie dann in die weiße Form zurückschlagen. Solche Kulturen lassen sich über viele Passagen weg in der gleichen Form fortimpfen, bis plötzlich Erscheinungen eintreten, welche zeigen, daß es sich nicht um Mikrokokken handelt. Es entstehen dann graue Randzonen um die porzellanweißen Kolonien (Abb. 58), welche im mikroskopischen Bild die schönsten diphtherieartigen Keulenformen aufweisen und aus lauter Stäbchen bestehen (Abb. 59). Auch dieser Zustand, welchen ich im ganzen zweimal erhielt, hält sehr lange an. Die Kolonien unterscheiden sich aber von Corynebakterien durch üppiges, graues Wachstum auf gewöhnlichem Agar. Weitere Differentialdiagnosen wurden nicht gemacht. Von hier aus habe ich bisher eine weitere Entwicklung nicht bekommen, doch habe ich feststellen können, daß diese Formen manchmal wieder Gonidien bilden, mit denen dann der Aufbau nach der anderen Linie bis zur typischen Milzbrandform möglich war. Vielleicht gelingt es im Laufe größerer Zeiträume, aus der vorhin besprochenen Wuchsform wiederum die Bazillenform zu erhalten.

Impft man Kulturen, die der Buchnerform zustreben und gerade sporenbildend geworden sind, in Kochsalzlösung oder als Bouillonkultur Meerschweinchen unter die Bauchhaut, so sterben sie in unregelmäßigen Zeitfolgen mit einheitlichen Krankheitsbildern. Unter der Bauchhaut erstreckt sich ein hämorrhagisches Ödem, dessen mikroskopisches Bild sich in nichts von dem unterscheidet, das R. Koch für das ,,maligene Ödem“ beschrieben hat (Abb. 65). Darauf komme ich später zurück.

2. Die Rückwandlung der feinen gramnegativen Gonidienformen. Nach mehrfacher Agarpassage werden die Kulturen kräftiger; aber immer noch können ganze Reihen ihr Wachstum einstellen; ein Grund war nie zu finden. Die Organismen sind etwa $\frac{1}{3}\,\mu$ dick und $1\frac{1}{2}\,\mu$ lang (Abb. 60); vielfach sieht man in ihnen je ein grampositives feines Körnchen. Nun gibt es verschiedene Wege. Entweder sieht man Schleimbildung (Symplasma ?), in welcher größere Formen entstehen (Abb. 66), die dann zu dicken grampositiven Stäbchen auswachsen und nun dort bis zur Buchnerform sich weiterentwickeln. Ebenso können zunächst Kugelformen entstehen (Abb. 67), die dann die gleiche Richtung einschlagen. Sie erscheinen als feine, weiße Knöpfchen in und an der grauen Kolonie (Abb. 73).

Aber gewöhnlich quellen die feinen Stäbchen zu runden, blassen Kugeln, die am Rand ein Körnchen zeigen und völlig mit dem Enderleinschen Mychit übereinstimmen. Dann entwickeln sich daraus lange, blasse Organismen, die 2 solche Kerne an den Polen besitzen und dem Dimychit Enderleins entsprechen. Diesen Vorgang hat Schultz bei Pest dargestellt. Vergl. Löhnis, Tafel O, Figur 61. Weiterhin lassen sich die Körnchen nicht mehr verfolgen, da sich nun die Zelle färbt (Abb. 63) und unter dauernder Abspaltung von Segmenten innerhalb der Impfstriche (Abb. 68) kommen nun regelmäßige grampositive Bazillenformen zustande, die teilweise lange gramwechselnde Fadenformen bilden können (Abb. 64). Es entsteht dann die Buchnersche Form (Abb. 56).

Teilweise bleibt auch hier die Kultur auf einer Form stehen, die zu Irrtümern Veranlassung geben kann. Koliartige, doch nur Dextrose säuernde, stabile Kreislaufformen habe ich viele Monate gehabt. Auf diesen

können plötzlich Knöpfe entstehen (Abb. 71), die aus sporentragenden Bazillen bestehen und wiederum die Buchnerform ergeben.

Es geht also hier die Entwicklung langsam über alle möglichen Phasen bis zur Bazillenform. Hier helfen ebenfalls die vorhin erwähnten Nährböden wie bei den großen Gonidienformen.

Und hier tritt vor allem eine Erscheinung auf, auf die Enderlein aufmerksam gemacht hat: das Alternieren zwischen zwei Phasen. Dies ist sehr wichtig. Das Auswachsen von Stäbchen (Phytit) aus den Kugelformen (Basit) geht unter dauernden Rückschlägen, bis endlich die Stäbchenform stabilisiert ist. Ist der grampositive Bazillus glücklich erreicht und impft man Mäuse, indem man, wie es Buchner angibt, mit Kultur getränkte Leinwandläppchen unter die Rückenhaut bringt, so sieht man beim Tod der Tiere in allen Organen grampositive Stäbchen. Beim Ausstrich auf Agarplatten sind sie aber gramnegativ, coliartig. Eine neue Impfung gibt jedoch das gleiche Bild der grampositiven Stäbchen in den Organen, auf den Platten stets die kürzeren gramnegativen Formen. Man kann nun durch viele Passagen (ich habe 14 gemacht) durch Schwanzwurzelimpfung mit einer Nadelspitze voll Milzgewebe der vorhergehenden Maus stets die gleichen Organismen weiterimpfen, ohne daß es zu typischem Milzbrand kommt; die Tiere sterben nach 3—6 Tagen und zeigen meist eine stark vergrößerte Milz.

3. Der Übergang von der forma Buchneri zur forma typica vollzieht sich nicht häufig. Ich habe ihn mit 11 verschiedenen Kulturen erhalten. Aber er läßt sich mit keinem Mittel erzwingen. Der Vorfrühling scheint von Bedeutung zu sein[1]).

Der Übergang vollzieht sich durch sehr auffallende Bildung heller Flecke in den Kolonien (Abb. 78 und 79). Diese Flecke sind mit den typischen Lockenformen ausgefüllt (Abb. 80). Je dünner man das Material auf die Platten aussät, desto größer sind die Aussichten zur Erzielung der typischen Form[2]).

g) Zusammenfassung.

Die Beschreibung der Rückwandlung aus den Gonidien zeigt, daß neben sprunghaften Rückschlägen eine langsame Rückverwandlung möglich ist, die viele Monate in Anspruch nehmen kann. Es gibt zweifellos Kulturformen, welche Mikrokokkenarten (candicans, luteus), Bakterienarten (Coliarten) und Bazillenarten (Subtilis) sehr ähnlich sind. Aber wenn man sie einige Zeit beobachtet, so findet man, daß sie nie konstant sind, sondern stets Veränderungen im aufsteigenden Sinne zeigen. Die Kugelformen werden länglich und zeigen stets eine Reihe ovaler bis kurzstäbchenartiger Gebilde und nie gleichmäßige Färbung; die Stäbchenformen wechseln stets ihr Aussehen, bis irgendeine scharfe Veränderung belehrt,

---

1) Eine Abhängigkeit von der Jahreszeit wird verschiedentlich angegeben. Aber auch sonst wirken äußere Einflüsse, an die man nicht zu denken pflegt. So kommen die verzweigten Formen der Knöllchenbakterien im wachsenden Knötchen vor, in den jüngsten und ältesten Knötchen nur Kugel- und Stäbchenformen.

2) Dies stimmt überein mit Erfahrungen Burris (L. et N., S. 182, 7. Aufl.), welcher fand, daß, je geringere Keimmengen man aussät, desto vollständiger die Anpassung der Organismen an den Nährboden ist.

daß es sich nicht um Mikrokokken oder Bakteriazeen handelt, sondern um Entwicklungsformen höherer Organismen. Gerade die Zahl der Beschreibungen von Mikrokokken- und Bakterien-,,Arten" ist unübersehbar[1]).

So beschreibt z. B. Söhngen (L. 37) einen Micrococcus paraffinae, den ich bei meinen Paraffinstudien (A. H. 97) nie finden konnte. Wohl fand ich stets Kugelformen, die auch beim Abimpfen von Paraffin zunächst diese Wuchsform beibehielten, aber später zeigte sich, daß sie oval und stäbchenförmig wurden. Dies machte mich stutzig, und ich untersuchte diesen Organismus weiter und erhielt aus synthetischen Nährböden mit reichlichem Glyzerinzusatz bald die vermutete Aktinomyzesform[2]).

Sieht man ausgesprochene Veränderungen sämtlicher Kolonien der Platte in ganz regelmäßiger Weise entstehen, wie sie durch Abb. 71, 72, 73, 78 und 79 (sämtlich von Milzbrand) dargestellt werden, so muß man immer mit Entwicklungsformen rechnen. Selbst wenn sie sich zunächst nicht von der Ausgangsform unterscheiden sollten, so tun sie dies bei genauerem Zusehen doch sehr oft.

Die serologische Identitätsprüfung mit Milzbrandserum (Thermopräzipitation, Agglutination) gelingt mit den Gonidien und teilweise noch mit den Regenerativkörpern. Aber schon bei der Bildung der regelmäßigeren Kugel- oder Stäbchenformen versagt sie und erscheint erst wieder bei der echten Milzbrandform. Auch die Kaninchensera, welche ich mit Gonidienmaterial hergestellt hatte, halfen mir nur bei den Gonidienformen und beim echten Milzbrand zu einer deutlichen Präzipitation.

Diese schwankenden Erscheinungen nehmen nach den neueren Erfahrungen über den Wechsel der Agglutinabilität bei allen Spezies nicht wunder (vgl. Bärthlein, Kraus-Uhlenhuth, S. 1199). Wenn Pneumokokken plötzlich nicht mehr auf das zugehörige Serum ansprechen und dafür auf Streptokokkensera (Neufeld, O. 93, 42*), wenn bei Typhus-, Ruhr- und Mäusetyphusbazillen die Agglutinabilität durch gemeinsame Züchtung mit Spirillum volutans verlorengeht (Seiffert, O. 93, 37*), so kann man nicht verlangen, daß bei solch starken Umwandlungen diese Eigenart bestehen bleiben muß.

Folgende Abbildung soll den Kreislauf im Überblick zeigen und gleichzeitig die Terminologie von Löhnis und Enderlein für diese Formen anführen.

Mit dem Beginn der Gonidienbildung hört die Endosporenbildung fast ganz oder völlig auf. Gab ich in gonidienbildende flüssige Kulturen typisches frisches Sporenmaterial, so erschienen bei weiteren Abimpfungen aus dieser Kultur zahlreiche Milzbrandkolonien auf der Agarplatte, während vorher die Zahl der typischen Kolonien um so mehr zurückgegangen war, je größer die Gonidienbildung war. Gab ich dagegen vegetative Formen in die Kultur, so war die Aussaat nach 3 und 6 Tagen nur wenig größer als vorher. Diese Tatsache stand im Einklang mit den Originalausstrichen: Eingeimpfte Sporen blieben in der Flüssigkeit als Ruheformen erhalten, vegetative Formen waren nur noch in wenigen Exemplaren teilungsfähig und beteiligten sich alle am Gonidienbildungsprozeß.

Es steht demnach unter bestimmten Voraussetzungen die Gonidienbildung so sehr im Vordergrund, daß weder Sporen gebildet werden, noch das vegetative Stäbchen sich durch Teilung vermehrt. Das Bild kompliziert sich aber manchmal dadurch,

1) Gegenüber ,,Kokken" von unregelmäßiger Lagerung und Form und von wechselnder Gramfestigkeit bin ich stets skeptisch und vermute eher Kreislaufformen als eine Kokkenspezies.

2) Micr. cyaneus ist auch ein Aktinomyzet.

Kreislaufformen des Milzbrandbazillus.

Schematische Darstellung	Benennung			Gefunden von
	Forma	nach Löhnis	n. Enderlein	
	typica	Typ L β	Sporascit	Ferdinand Cohn, Robert Koch
	asporogenes	Typ L α	Gonascit Catascit Cystascit	R. Koch, K. B. Lehmann, Eisenberg
		Gonidangium Typ C	Cystit	Toussaint, Crookshank, Lignières et Durieu, Rodet, Lutz
		Gonidie Typ K	Gonit	Fokker, Archangelski, E. Klein, deBary, Roloff, Toussaint, Phisalix, Berndt, Henri, Lutz u. a.
		Symplasma Typ D	Symplast	
		Regenerativkörper Typ J	Basit	Fokker, Toussaint, Henri, Lutz
		Typ E	Phytit	
		Typ F	Ascit (Phytascit)	a) Henri, Beller (?), Zehrun (?) b) Bac. anthrac. colisimilis Zironi, Sanfelice. Babes u. Top (?), Orr(?)
		Typ L β (F?)	Ascit (Sporascit)	Verschiedene ödemerzeugende aerobe Bazillen. Foa u. Bonome, E. Klein (?), Sanfelice (?) u. a.
	Buchneri	Typ L β		Hans Buchner, Prazmowski
	mobilis			Ewart, H. Buchner, Rozsahegyi, Wagner, Seifert
	typica			
neue Cyclode				

Abb. 2. Darstellung des Kreislaufes.

Die Spalte 1 gibt die schematischen Bilder der von mir gefundenen Kreislaufformen. Doppelpfeile zeigen das Alternieren zwischen zwei Phasen an. Meine Benennung ist in der Spalte 2 neben die von Löhnis und Enderlein gesetzt, die beide ganz allgemein sind. Die Enderleinsche Nomenklatur erscheint mir sehr brauchbar. Stabilere Varietäten sollten daneben besondere Namen erhalten, wie die von mir für Milzbrand gebildeten: Forma typica, asporogenes, Buchneri und mobilis. Alle anderen Formen erscheinen zu unstabil und müssen eben dann heißen: „Das Phytitstadium von Bac. anthracis" usw. Einzelheiten über die Formae siehe später.

daß ein Teil der Gonidienformen sich schon wieder in der Aufwärtsentwicklung befindet und die verschiedensten Kolonieformen, die dem aufsteigenden Teil der Zyklode entsprechen, liefert. Solche Verhältnisse trifft man an, wenn man gonidienbildende Kulturen längere Zeit verfolgt. Anfangs schied ich solche Kulturen als „verunreinigt" aus. Als ich aber später

die gleichen Formen in der aufsteigenden Gonidienentwicklung fand, klärte sich mir mit einem Schlage diese Angelegenheit.

Es ist merkwürdig, daß in einem Falle die Zyklode mit großer Schnelligkeit durchlaufen wird, während unter anderen Bedingungen, besonders wenn man die vegetative Form durch bestimmte Mittel (Faulflüssigkeit, Pyozyanase usw.) zu dieser Generationsänderung zwingt, sich die Gonidien rasch und üppig bilden, um dann eine ganz langsame Weiterbildung zu zeigen. Um mit Enderlein zu reden: im ersten Fall liegt eine mäßige Mochlolyse vor, im zweiten Fall zunächst eine starke Mochlolyse, die aber dann in eine Mochlose umschlägt. Es scheinen hier noch sehr feine Beziehungen zwischen der Mutterzelle und den Regenerationsformen zu bestehen. Vielleicht sind es Sekrete der Mutterzelle, welche die junge Zelle zum Durchlaufen der Zyklode anregen: Erfolgt die Gonidienbildung in großer Hast unter Vernichtung sämtlicher Mutterzellen, so fehlen späterhin die anregenden Stoffe zum Durchlaufen der Zyklode, und diese findet nur mühsam statt. Tatsächlich kann man den Prozeß durch Zugabe von geringen Mengen Kulturfiltrat etwas beschleunigen.

Ob der Kreislauf damit alle Möglichkeiten erreicht hat, ist noch nicht zu sagen; dazu sind viele Stämme durchzuprüfen. Arthrosporen und Exosporen habe ich bei Milzbrand nicht entdecken können, dagegen die Mikrosporen K. B. Lehmanns (siehe später). Die von Günther (1906) dargestellten Sprossungen der Milzbrandgonidien, welche dieser abbildet, aber nicht erwähnt (Günthers Bild ist als Abb. 3 angegeben), habe ich nicht in so ausgesprochenem Maße gefunden. Enderlein nennt solche Formen Telogonidien, während ich fast nur Askogonidien (Abb. 4) und Mesogonidien (Abb. 29) sah. R. Kochs Abbildung (Abb. 1) zeigt Askogonidienbildung.

Ob das Zystit Enderleins mit den Gonidangien von Löhnis übereinstimmt, ist nicht ganz sicher, aber dafür spricht die gleiche Größe und Form, die platzende Membran, die Bildung am Ende eines Syndimychites oder die Bildung aus einer Gonidienanlage. Ferner werden die Keulenformen des Corynebact. diphtheriae von Löhnis als Gonidangien, von Enderlein als Zystite angegeben.

Die Mikrozysten, eine von Löhnis aufgefundene reproduktive Form, habe ich nicht gefunden. Es sollen sich dabei ganze normale Zellen in rundliche dickwandige Dauerformen umändern.

Die ersten Beobachtungen über atypische Formen des Milzbrandbazillus hat neben Hans Buchner Ewart gemacht (Quarterly Journ. of microscopial Science, 18, 1878). Er fand Sporenformen, die sich zunächst in 4 „Sporula" teilen, welche sich in Stäbchen umwandeln. Er scheint entweder Mikrozysten oder Regenerativkörper vor sich gehabt zu haben. Sie waren nicht hitzeresistent.

Später hat E. Klein (Quarterly Journ. of Microscopial Science, 23, 1) größere Untersuchungen über den Milzbrandbazillus gemacht. Er findet Kugelformen, die teilweise kettenartige Anordnung zeigen und sich durch Knospung vermehren. Vielleicht handelt es sich um Mikrozysten.

Ein Jahr später (1884) gab de Bary an, daß sich Milzbrandbazillen in Kugelformen umwandeln. Solche Kugelformen haben gleichzeitig auch Fokker, Archangelski (C. f. d. med. Wiss. 21, 257), Roloff (Arch.

f. wiss. u. prakt. Tierheilk. 9, 459), Toussaint u. a. gesehen. Phisalix (C. r. 131, 424) hat Kollodiumsäckchen mit Hundeblutserum gefüllt, dann beimpft und in die Bauchhöhle eines Hundes versenkt; aus einem nach Pasteur abgeschwächten Stamm erhielt er Kugelformen, welche ihr eigentümliches Wachstum bei der Weiterzüchtung bewahrten und nicht virulent waren. Er nannte sie Bac. anthracis brevigemmans. In neuerer Zeit hat Lutz (Z. H. 97, 12) die Kugelformen genauer studiert und längere Zeit weiterzüchten können. Er erhielt sie auf Kartoffelbreiagar bei niederer Temperatur. Sie wuchsen als durchsichtig glashelle Kolonien, die leicht opalisierten und waren gegen Austrocknung resistent. Für Mäuse nicht virulent. Bouillon gleichmäßig getrübt.

Gonidangien hat zuerst Toussaint gesehen, nach ihm Crookshank, dann Lignières und Durieu (R. 31, 56). Rodet konnte dies bestätigen (1894). Auch Lutz gibt riesenhafte Gebilde an. Die dicken Kugeln Ružičkas (A. H. 64, 219) gehören wohl auch hierher.

Eine Reihe von Kreislaufformen sind als Degenerationen erklärt worden. In den Bildern von A. Fischer (Z. H. 35, 1), die er von seinen Glyzerin- und Kochsalzkulturen gibt, sieht man vielfach gonidienartige Gebilde. Gamaleia hat 1888 nach Verwendung von Kalium-Bichromat zur Erzeugung asporogener Stämme eine Reihe von Kreislaufstadien als Degenerationsformen beschrieben. Dasselbe hat vermutlich Braem (Zieglers Beitr. 7, 11) in destilliertem Wasser, Berndt (O. 28, 648) bei Fäulnis, W. Schmidt (O. 22, 332) bei der Verwendung von Desinfektionsmitteln und Matzuschita (1900) auf Salznährböden gesehen. Inwieweit es sich hier um Degenerationserscheinungen handelt, läßt sich nicht ohne weiteres sagen. Daß nicht überall bei der Anwendung von keimtötenden Mitteln eine Schädigung und Abtötung erfolgt, zeigen die Untersuchungen von Mme. Henri, welche die Wirkung der ultravioletten Strahlen auf Milzbrandbazillen einer Nachprüfung unterzog (Compt. r. acad. 158, 1032). Viele Zellen wurden dabei getötet, aber einige gaben stets Kolonien von völlig veränderter Form. Zwei Typen hielten sich mehrere Monate konstant; ein kokkenförmiger und ein gramnegativer Typus, welcher Fadenformen bildete. Die ersteren kehren meist zur Ursprungsform zurück, die letzteren bilden gelbliche oder orangefarbene Kolonien, verflüssigen die Gelatine nicht und rufen bei Maus und Meerschweinchen eine sehr langsame Infektion hervor mit serösen Ergüssen und Abszessen. Die Kulturen liefern dann Kolonien vom kokkenförmigen Typus und solche vom Stäbchentypus. Diese Stäbchen gaben nach der Tierpassage wiederum dieselben Stäbchenformen, von denen viele zu Kugeln zerfielen. Die jener Arbeit beigegebenen Bilder zeigen die verschiedenen Stadien, von denen die meisten mit meinen Befunden völlig übereinstimmen, nur die verzweigte Fadenform konnte ich nicht finden. Fadenformen haben auch Nadson et Adamovič (L. 31, 387) gefunden. Die Fadenformen gingen nach Henri nicht direkt, sondern erst nach Bildung von kokkenförmigen Regenerativkörpern in die Milzbrandform über.

Einen Bac. anthracis colisimilis beschrieb Zironi, und Sanfelice (R. 79, 436) bestätigte den Befund. Die Stäbchen sind sporenlos, gramnegativ, verflüssigen die Gelatine nicht und geben keine Agglutination auf

Milzbrandserum. Sie sind teilweise pathogen; ihre Bildung wurde bei Sauerstoffabschluß erzielt.

Es sind demnach von verschiedenen Autoren bald diese, bald jene Kreislaufformen des Milzbrandbazillus festgestellt worden; sie sind mir eine wertvolle Bestätigung für die Existenz eines solchen Kreislaufes bei den verschiedensten Milzbrandstämmen.

IV. Die Varietäten als stabilisierte Kreislaufformen.

Löhnis und Enderlein halten sämtliche Varietäten für Kreislaufformen, die entweder kurze oder längere Zeit (Dauermodifikationen) bestehen bleiben und beim Aufbau der vegetativen Form aus der Gonidie entstehen. Nach Löhnis sind diese Modifikationen als „subcycles" miteinander verbunden, Enderlein spricht von Konkulminanten. — Beide Forscher stehen demnach vermutlich auf dem Standpunkt, daß eine entwicklungsgeschichtliche Gleichstellung zwischen den einzelnen Modifikationen vorliegt: Es sind mehrere Formen als Höchstpunkte (Kulminanten) der Artentwicklung vorhanden, zwischen denen Übergänge möglich sind. Allerdings sagt Enderlein (S. 170): „Eine Summe konstanter Generationen, charakterisierbar durch eine gestaltliche, physiologische oder biologische Eigenschaft (Designante) ist eine Formante. — Ein guter Teil der Charakteristika von Formanten wird sich als bloße Designante eines Zyklostadiums herausstellen; so werden bei besserer Kenntnis zahlreiche Formanten in das Gebiet der Zyklostadien abwandern." —

Es gilt also die Frage zu beantworten, ob die Varietäten nur gelegentliche Verschiebungen bestimmter Eigenschaften durch Einwirkung veränderter Außenbedingungen sind — etwa Beweglichkeit, Gelatineverflüssigung, abgeänderte Pathogenität, Kapselbildung, Formveränderungen, die alle in der Linie der Zyklode liegen, oder ob zu einer solchen Umbildung eine neue Zyklode einsetzen muß. Das letztere scheint Löhnis anzunehmen, denn er sagt, daß im Symplasma, welches seiner Ansicht nach für die Gonidienstadien von größter Bedeutung ist, auch die größten Einflüsse auf die Weitergestaltung des Bakterien-Individuums stattfinden.

Zum Studium dieser Frage wären die Pseudomilzbrandbazillen das dankbarste Objekt. Sie unterscheiden sich durch einige Charakteristika scharf vom typischen Milzbrandbazillus. Ich habe deshalb die in unserer Sammlung befindlichen Stämme „Hüppe und Wood", „Erlangen", „Sobernheim" und „Lippert" herangezogen, aber vergeblich versucht, ihre Eigenschaften mit denen des echten Milzbrandbazillus in Übereinstimmung zu bringen. Ich kam dabei zu der Ansicht, daß diese Organismen vielmehr mit den saprophytischen Bazillen der Subtilis-Mesenthericus-Gruppe übereinstimmen als mit dem echten Milzbrandbazillus.

Zweifellos wirft man als Pseudomilzbrandbazillen ganz Verschiedenes zusammen (vgl. Uémura, O. 75, 21). Die Verwandtschaft in der Bakteriologie gründet sich auf morphologische und biologische Ähnlichkeit, man hat aber bisher keinen Beweis für ihre Stammverwandtschaft. Heim (R. 39, 195) betont, daß an den, die Krankheitserreger am häufigsten bergenden Stoffen auch solche Organismen am zahlreichsten haften, welche mit dem Krankheitserreger eine weitgehende Ähnlichkeit besitzen. Dies ist vom Milzbrand, von der Diphtherie, von der Tuberkulose, von den Coccaceen und von den Darmparasiten bekannt, aber die Frage ist noch ungelöst, in welcher Beziehung sie zueinander stehen. Es sind hier wie überall, wo man nach der Kausalität fragt, 2 Lösungen möglich: 1. Die Organismen werden einander ähnlich infolge ihrer gleichgerichteten Ent-

wicklung, gegeben durch die gleichen Umweltbedingungen, 2. die Organismen entwickeln sich in gleicher oder ähnlicher Form, weil sie a priori einander ähnlich sind, d. h. tatsächlich stammverwandt sind. Vorderhand ist nur ihre Ähnlichkeit in Form und Wirkung in der gleichen Umwelt bekannt. Dabei bietet die übereinstimmende Präzipitation und Agglutination meines Erachtens keine Sicherheit für die Stammverwandtschaft.

Andererseits darf der häufige Befund von milzbrandähnlichen Organismen bei der Untersuchung fauligen Materials auf Milzbrandbazillen (z. B. Hagan, J. of. Bact. 5, 343) nicht außer acht gelassen werden. Diese Tatsache wird aber erst wertvoll, wenn wir über die Kreislaufformen und die Modifikationen des Milzbrandbazillus unterrichtet sind.

Die Entwicklung der Zyklode ist im letzten Abschnitt beschrieben worden. Es bleibt nun übrig, die einzelnen stabileren Formen, welche der Milzbrandbazillus besitzen kann, zu umgrenzen.

Die Formen des Milzbrandbazillus.

a) Forma typica.

Der aus dem erkrankten Rind oder Schaf frisch gezüchtete Milzbrandbazillus hat in weitaus den meisten Fällen eine klar umschriebene Morphologie und Biologie. Die lockenförmigen Kolonien von zäher Konsistenz, die langen Bazillenketten mit den typischen eckigen Stäbchen, welche unbeweglich sind, die Kapselbildung im Tierkörper, der Gelatinestich, welcher langsam verflüssigt, mit typischen seitlich abstehenden Ästchen, die geringe Hämolyse auf Blutnährböden, die rasche Tötung der kleinen Laboratoriumstiere mit typischem Befund gestatten, den Bazillus anthracis sicher zu erkennen.

Dieses Stadium ist nach Enderlein (S. 333) ein Phytaszit. Daß eine größere Reihe von Körnern, welche diesen Standpunkt rechtfertigen, vorhanden sind, zeigen die Arbeiten von Nils Sjöbring (O. 11, 65), Ambroz (O. 51, 200), Pinzani (O. 57, 97). Allerdings kam Ilkewitz (O. 15, 261) zu anderen Ergebnissen. Es scheinen stets färberisch verschieden erfaßbare Körner vorzuliegen, wie auch aus den Arbeiten von Feinberg (O. 27, 417), Nakanishi (O. 30, 108), Ottolenghi (R. 34, 381), Krompecher (O. 30, 385), Marx (O. 28), Babes (Z. H. 20, 412) und Petit (Z. ges. H. 9, 411) hervorgeht. — Ich versuchte in verschiedener Weise den Zusammenhang zwischen Zellkörnchen und Gonidienbildung zu klären, es reichte jedoch zu diesen Studien meine mikroskopische Einrichtung nicht aus.

Das erste, was der aus dem Organismus herausgezüchtete Milzbrandbazillus verliert, ist die Kapsel. Die verschiedenen Ansichten über die Bedeutung derselben, die bei Eisenberg (Kraus-Uhlenhuth, I. 229, 1922), Preisz (O. 58, 553), Kodama (O. 62, 177), Woloschin (O. 72, 312), Bail (O. 75, 159 und O. 76, 38 und 330) zu finden sind, beruhen auf der Tatsache, daß während der Überschwemmung des Körpers durch die Bazillen eine Kapsel vorhanden ist, die bei der Züchtung auf gewöhnlichem Agar wegfällt, dagegen auf Serumnährböden erhalten werden kann. Alle übrigen Eigenschaften des typischen Milzbrandbazillus werden durch die Endosporen konserviert; wie es scheint, unter bestimmten Bedingungen (Seidenfaden, Zimmertemperatur, Dunkelheit) unbegrenzt. Bei häufiger Abimpfung kann die Fähigkeit zur Gelatineverflüssigung (Matzuschita, O. 28, 303) und die Virulenz (Pane, O. 13, 538) spontan verlorengehen, doch durch Verwendung passender Medien (Serum, Tierpassagen) wieder gewonnen werden. Der Virulenzverlust läßt sich durch Züchtung bei

höheren Temperaturen beschleunigen. Pasteur hat gezeigt, daß es einen Grenzzustand gibt, bis zu welchem die Virulenz durch Tierpassagen wieder zu erhalten ist, jenseits dieser Grenze ist die Fähigkeit, Tiere zu infizieren, „unwiderbringlich" verloren. Chauveau hat festgestellt (O. 5, 880), daß es mit dünner Fleischbrühe unter Zusatz von etwas Blut auch bei völlig verschwundener Virulenz noch gelingt, diese zurückzuerhalten, aber dies scheinen Ausnahmen zu sein (vgl. Baumgartens Jahresber. 1, 56).

Diese Abnahme der Virulenz wird aber noch deutlicher durch die Beobachtungen unter natürlichen Bedingungen. Die primäre Erkrankung, die fast immer vom Rind oder Schaf ausgeht und dort den typischen Milzbrand (Septikämie) gibt, hat bei den sekundär befallenen Individuen (Mensch, Hund, Katze, Schwein, Geflügel), die meist durch die Sporen aus dem primär infizierten Tier angesteckt werden, fast immer einen durchaus anderen Charakter. Es bilden sich lokale Ödeme der Subkutis, Schwellung der benachbarten Drüsen, dagegen ist die Milz nicht oder nur undeutlich verändert. Bazillennachweis und Thermopräzipitation aus Milz, Leber, Blut und Muskulatur schlagen fehl (v. Ratz, O. 19, 306, Schultze, D. m. W. 1901, Granucci, R. 53, 492, Seibold, R. 57, 161 u. a.) und gelingen nur im Ödem und in den veränderten Lymphdrüsen. Die Infektion trägt demnach ganz lokalen Charakter. Merkwürdig ist, daß dieser sonst so aerophile Erreger in diesem Stadium Organe aufsucht, welche sonst nur von den Anaerobiern bevorzugt sind. Der Befund ist teilweise so ausgesprochen atypisch, daß manche Milzbrandinfektion als malignes Ödem ausgelegt wurde (Krannhals, Z. H. 2, 297 bei Hadernkrankheit). Auf diese Form der Milzbranderkrankung macht zum ersten Male Crookshank (D. m. W. 1889, 34) aufmerksam, der bei Schweinen ein gelblich-gelatinöses Ödem an der Injektionsstelle fand, ebenso bei Fütterungsmilzbrand. Später hat Röll eine Unterscheidung zwischen der septikämischen Form (Milzbrandfieber) und der lokalisierten Form gemacht und zuletzt Dammann und Freese (D. tierärztl. W. 1909, 561) 3 verschiedene Formen beim Schwein unterschieden. Zweifellos hängt die Erscheinung vielfach mit der Resistenz des befallenen Organismus zusammen; so ist bei refraktären Tieren (Ratten, Geflügel) nur die lokalisierte Form zu erzeugen (Frank, O. 4, 739), und Müller hat gezeigt (O. 14, 779), daß verschiedene Rattensorten auch verschiedene Empfindlichkeit besitzen. Weiterhin kann man feststellen, daß bei halbwegs immunisierten Tieren, die an sich sehr empfänglich sind, die Milzbrandinfektion in dieser veränderten Form abläuft. Ich habe Meerschweinchen und Kaninchen immunisiert und nachher mit normalen Milzbrandbazillen geimpft. Die Tiere zeigten ausgesprochenes Ödem der Subkutis; Milz und Blut waren frei von Bazillen, während sie im subkutanen Ödem in großer Menge vorhanden waren (vgl. Baumg. Jahresber. 4, 115). Aber auf der anderen Seite sieht man auch, daß der Mikroorganismus sich verändert. Die von mir gefundenen Bazillen zeigten einen völligen Verlust der Kapsel, eine Wahrnehmung, die auch Bail (O. 76, 330) gemacht hat. Der typische Milzbrandbazillus verliert also hier vielfach sein Kapselbildungsvermögen. Ebenso ist der Organismus zu bewerten, welchen Foà und Bonome (Z. H. 5, 403) beschrieben haben: Der aerobe

Ödemerzeuger bildete im allgemeinen kurze, dicke Bazillen mit abgerundeten Enden und stammte von einem typischen Milzbrandfall. Hierher dürften auch die von E. Klein (O. 10) und San Felice (Z. H. 14) gefundenen aeroben Bazillen des malignen Ödems gehören und eine große Reihe von Organismen, welche ohne Züchtungsverfahren und vor der Kenntnis der Anaerobiose des eigentlichen Bazillus Oedematis maligni als Erreger von Tierkrankheiten festgestellt wurden (Rawitsch, 1872, Versuch 38, 39, 62, 63, 65 und 66). — Ob der von Petri 1884 gefundene Ödembazillus, welcher nach Ghon und Sachs nichts mit dem Bazillus Oedematis maligni zu tun hat (O. 35, 674), hierher gehört, ist fraglich. Ebenso der aerobe Rauschbrandbazillus von W. Koch (D. Chir. 9).

Pasteur hat seine Kontrollimpfungen nach der Immunisierung mit den Vaccins I und II zweifellos mit einem abgeschwächten Milzbrandbazillenstamm gemacht; sein Gegner Colin hat ihm dies vorgehalten (vgl. Börner, D. m. W. 1881, 373); die Impfungen an nicht immunisierten Kühen gaben nur ausgedehntes Ödem um die Impfstelle hinter den Schultern, und Rozsahegyi (D. m. W. 1882, 24) betont ebenfalls den uncharakteristischen Befund der mit dem Pasteurschen Kontrollstamm geimpften nicht immunisierten Tiere. Daß solche abgeschwächten Organismen nach mehr fachen Impfungen wieder in die normale typische Form zurückzuführen sind, hat Abel (O. 17, 171) gezeigt, aber in dieser Form sind sie sehr wenig virulent, und die Ansteckungskraft kann mit einem Schlage ganz abbrechen.

Eine weitere Abnahme der Virulenz gibt dem Erreger nur noch die Fähigkeit, einen ganz umschriebenen Prozeß zu machen — den Milzbrandkarbunkel, welcher meist in Heilung ausläuft und von welchem nur ausnahmsweise weitere Infektionen ausgehen (v. Sarnowski, tierärztl. R. 1926, 133 — Vornahme einer Schwergeburt durch einen Tierarzt, welcher eine Milzbrandpustel am Finger hatte). Hier sind die experimentellen Untersuchungen von Bail (O. 76, 330) von größter Wichtigkeit: Bei der septikämischen Durchwucherung des Tierkörpers kann man nur den bekapselten Bazillus beobachten, dagegen finden sich kapsellose Bazillen bei den lokalisierten Prozessen. Durch alle Stufen hindurch erfolgt eine allmähliche Abänderung. Die kapsellosen Bazillen besitzen noch eine gewisse Infektiosität: Ihre Einimpfung in Tiere ruft ohne eigentliche — jedenfalls ohne auffallende Vermehrung bei allen Tieren die Bildung von Ödemen hervor. Ein Stamm Bails hat auch diese Fähigkeit verloren und erzeugt nunmehr eine mehr oder weniger ausgesprochene Eiterung an der Impfstelle. Dieses Stadium des Erregers entspricht also der pustula maligna. In diesem Stadium kommt auch die größte Anzahl atypischer Befunde vor. Babes und Top (D. m. W. 1896) fanden gramnegative, schwach bewegliche Stäbchen, die kaninchenpathogen waren; Orr (Lancet 1909, 1594) beschrieb einen proteusartigen Bazillus aus der Pustel eines Fleischers. Allerdings sind atypische Befunde in allen Stadien zu finden, wo der Erreger plötzlich seine Infektiosität verliert und gelegentlich zurückerhalten kann. Beller hat aus einem milzbrandgestorbenen Pferd ein schlankes Stäbchen gefunden, das durch Mäusepassagen wieder zum typischen Milzbrand wurde (B. tierärztl. W. 1923, 192). Ähnlich Zehrun (D. tierärztl. W. 1925, 103). Anthraxähnliche Organismen, bei größtem

Verdacht auf Milzbrand, haben weiterhin Wilamowsky (R. 53, 483), Schürmann (R. 66, 97) und Fiori (R. 77, 435) nachweisen können. Vielfach findet man bei der Züchtung keine Milzbranderreger, sondern nur durch Tierversuch (Lange, H. R. 1901). Manchmal läßt auch dieser im Stich. Hier sind Hofherrs Untersuchungen (O. 55, 434) von Interesse, der bei spontanen und experimentellen Enteninfektionen zwar bestimmte Krankheitsbilder erhalten hat, aber häufig keinen Milzbrandnachweis führen konnte.

So nimmt die Virulenz des Milzbrandbazillus rascher oder langsamer ab. Das Krankheitsbild ist in jedem Stadium ein durchaus anderes und allmählich erhält man Organismen, die mit dem typischen Milzbrandbazillus nichts mehr zu tun haben. Parallel dazu können auch bei künstlicher Züchtung die Umwandlungen des Milzbrandbazillus verfolgt werden. Der Verlust des Vermögens zur Kapselbildung (Gruber und Futaki, M. m. W. 1906, 249; Uémura, O. 75, 21), die Änderung der Gestalt des Erregers lassen sich experimentell erzeugen, aber bisher nicht in die Ausgangsform zurückführen (Bail, Preiß, O. 58, 560).

Im allgemeinen kann man sagen, daß nur die erste Infektion, die vorzüglich das Schaf und Rind befällt, typisch verläuft. Die weitere Übertragung durch Sporen und vegetative Formen gibt meist andere Krankheitsbilder, wenn sie überhaupt infektionstüchtig sind. Denn wenn man die Berichte liest, wie unvorsichtig mit dem Kadavermaterial umgegangen wurde, solange die volle Erkenntnis der Infektiosität nicht vorhanden war, so muß man annehmen, daß der Erreger in den meisten Fällen rasch seine Wirkung verliert und nur ausnahmsweise eine weitere Ansteckung ermöglicht.

Viel weniger infektiös scheint die ödematöse Form zu sein, noch weniger die pustula maligna, wenn auch da und dort Ausnahmen beschrieben sind. Glage (B. tierärztl. W. 30, 576) hat deshalb gefordert, daß man für die Praxis den Begriff Milzbrand erweitern möge, indem darunter nicht nur die durch den typischen Milzbrandbazillus hervorgerufenen Erkrankungen, sondern auch die Fälle zu verstehen sind, bei denen milzbrandartige Veränderungen durch Bazillen vom ungefähren Typus des Milzbrandbazillus, also durch Pseudomilzbrandbazillen erzeugt worden sind.

In der Zyklode des Milzbrandbazillus bei der Entwicklung von der Gonidie zur vegetativen typischen Milzbrandform kommt ein Stadium vor, in welchem der Erreger eine Form durchläuft, wie sie Robert Koch beschrieben hat, die er Bacillus oedematis maligni nannte. Das mikroskopische Bild deckt sich völlig mit dem von Robert Koch angegebenen. (Abb. 65.) Eine geringe Beweglichkeit ist da und dort wahrnehmbar. Zur Infektion sind größere Mengen Material nötig. Der Unterschied, auf welchen Robert Koch den größten Wert legt, daß nämlich der Ödembazillus in und auf dem serösen Überzug der Organe sich vermehre und im Innern der Blutgefäße nicht gefunden werde, Milzbrand dagegen gerade das Innere der Blutgefäße bevorzuge, läßt sich nach dem, was wir über die ödematöse Form des Milzbrandes wissen, nicht aufrechterhalten[1]). Das Einzige, was

1) Zudem gibt R. Koch an, daß unzweifelhaft beide Organismen nebeneinander vorkommen können.

zwischen dem Organismus von Robert Koch und meinem Organismus nicht übereinstimmt, ist die Tatsache, daß der Ödembazillus Robert Kochs weitverbreitet in der Erde zu finden sein soll. Diese Erdbewohner sind nun von Gaffky (Mitt. G. A. 1881, 92) weiter untersucht worden, der von deren Anaerobiose noch nicht völlig überzeugt war, während Pasteur für seinen vibrion septique bereits Anaerobiose angegeben hatte. Der anaerobe Organismus ist dann weiterhin vielfach studiert worden. Brieger und Ehrlich haben ihn zum ersten Male bei Menschen gefunden. W. und R. Hesse haben ihn anaerob dargestellt, Ghon und Sachs scharf umschrieben, endgültig als Bac. oedematis maligni benannt und mit dem vibrion septique identifiziert. Zweifellos gibt es aber auch eine aerobe Milzbrandform, die dieselben Erscheinungen macht. Diese Form konnte ich feststellen und Gratia (C. r. Soc. biol. 91) hat eine solche Varietät erhalten und beschrieben, die aus glattrandigen, glänzenden Kolonien besteht und in der Bouillon Trübung zeigt. Wieweit die oben beschriebenen ödematösen Erscheinungen bei Milzbrandtieren durch solche Organismen hervorgebracht werden, läßt sich nicht entscheiden. Tchernogoroff fand atypische Stäbchenformen und interessant ist, daß bei der Untersuchung von Roßhaaren und Borsten in der Pinselindustrie Mäuse vielfach an Ödem sterben. Goldschmidt (O. 14, 784), Gruber (O. 20, 121). Auch findet man bei der Untersuchung der Erde in der Umgebung von Milzbrandkadavern bei den infizierten Tieren vielfach Ödem[1]); der Nachweis des echten Ödembazillus wird aber meist nicht erbracht, man begnügt sich vielfach mit dem pathologischen Bild.

b) Forma asporogenes.

K. B. Lehmann (M. m. W. 1887, 485) hat zuerst die Mitteilung gemacht, daß jahrelang auf Gelatine fortgezüchtete Milzbrandbazillen ihre Fähigkeit zur Sporenbildung verlieren können, jedoch noch völlige Virulenz aufweisen. Die Bildung echter Endosporen konnte trotz vieler Kultur- und Tierpassagen nicht wieder erhalten werden, nur die Bildung kleiner, runder, glänzender Körperchen, die bei 60° abgetötet wurden. Er nannte sie Mikrosporen und hielt sie für Sporen, die nicht völlig ausreifen. Lewin (Baumg. Jahresb. 3, 102) lehnt ihren Sporencharakter ab und nennt sie Pseudosporen[2]). Diese Körperchen scheinen gelegentlich endständig vorzukommen (Chauveau et Phisalix, vgl. Löhnis, S. 138ff.). Eisenberg konnte in ausführlichen Arbeiten zeigen (O. 63, 305 und O. 73, 81), daß man sporogene und asporogene Rassen erhalten kann. Gelegentlich finden sich asporogene Stämme bei der direkten Züchtung aus dem Tier (Müller, O. 66, 501).

Die Bedingungen zur Sporenbildung sind von Schreiber (C. 20, 431), später von Gärtner (R. 35, 275) genau festgelegt worden. Sauerstoffabschluß, ungünstige Bedingungen, Kohlehydratreichtum stellen die Sporenbildung sehr in Frage. Auch die Züchtung in Milch hebt die Sporen-

1) Schon Pasteurs Untersuchungen zeigen das Vorherrschen des „malignen Ödems“ auf Milzbrandkadaverplätzen.

2) Löhnis zählt solche rudimentäre Sporenbildungen zu den Regenerativkörpern.

bildung auf (O Abschluß + Kohlehydrate). Längere Züchtung bei höherer Temperatur hebt die Sporulation auf (Phisalix, O. 13, 533), nach Roux: Karbolsäurezusatz, nach Chamberland et Roux: Kaliumbichromat, nach Behring: Salzsäurezusatz (vgl. Surmont et Arnould, A. P. 1895, 1).

Ich selbst habe feststellen können, daß auf Agar, welchem das Filtrat von faulendem Milzbrei zugesetzt war, eine Sporenbildung nur ausnahmsweise eintritt, dagegen die Mikrosporen Lehmanns häufiger vorkommen. Sie liegen nie mittelständig, sondern stets subtermal und sind teilweise mit der Möllerschen Sporenfärbung darstellbar. Die Bildung echter Endosporen aber ließ sich auf solchen Nährböden auch bei monatelanger Beobachtung (Kolleschalen) bei verschiedenen Stämmen nur einmal nachweisen. Dagegen werden von der asporogenen Form aus Gonidien in großer Zahl gebildet. Behring hat schon 1889 darauf hingewiesen, daß die asporogenen Formen sehr schnell Degenerationsformen bilden und Preisz (O. 35) hält sie dem Untergang geweiht. Enderlein (S. 146) hat dagegen betont, daß es sich im Gegenteil um den Eintritt in die Zyklode handelt, und dem kann ich durch viele Beobachtungen nur beistimmen[1]). Das Aufwachsen von Kolonien wird allerdings vielfach unterbrochen, weil sich Formen bilden, die zunächst wenig Neigung zur Zellteilung zeigen.

Wahrscheinlich sind nur geringe Reize nötig, um diese andere Fortpflanzungsrichtung auszulösen. So hat R. Koch gefunden, daß flüchtige Fettsäuren, die in Gasform einwirken, die Sporenbildung verhindern und Degenerationswuchsformen, also wohl Gonidienbildung, auslösen können. Dagegen kann ich eine andere Beobachtung R. Kochs nicht bestätigen, die besagt, daß neben Fäulniserscheinungen der Milzbrandbazillus so gut gedeihe, ,,als ob er der alleinige Bewohner der Nährflüssigkeit wäre. Seine Fäden erreichen schon nach 24 Stunden eine beträchtliche Länge und haben öfters schon nach 48 Stunden und selbst noch zeitiger Sporen in großer Menge angesetzt.“ Diese Angabe deckt sich auch nicht mit den verschiedenen Beobachtungen über die rasche Zerstörung des Bac. anthracis bei Fäulnis. Impft man mit Kulturen, die auf mit filtrierter Faulflüssigkeit versetztem Agar gewachsen sind, Mäuse, so erhält man raschen Tod der Tiere, in den Organen finden sich zahllose, gequollene Milzbrandstäbchen, von denen viele in Auflösung sind. Die Ausstriche auf gewöhnlichem Agar geben zahlreiche Gonidien und Gonidangienformen, atypische, glattrandige, erst nach Tagen allmählich typisch werdende Milzbrandformen in großer Zahl. Man kann von hier aus bequem die aufsteigende Zyklode verfolgen.

c) Forma mobilis.

Die älteste Wahrnehmung über die Beweglichkeit bei Milzbrandbazillen hat wohl Ewart gemacht (Quart. Journ. of microscop. Science 18, 1878). Er schreibt: Wenn man kleine Stücke von der Milz oder einen Tropfen Blut einer Maus, welche gerade an Impfmilzbrand starb, in einem Tropfen frischen Kaninchenserums untersucht, so sieht man viele bewegungs-

1) Er unterscheidet treffend: Gonascit = Gonidien bildend; Catascit = in Gonidien zerfallend und Cystascit = Cystite (Gonidangien) bildend. Die von Enderlein S. 147 gezogenen Schlüsse sind jedoch unbrauchbar.

lose Stäbchen verschiedener Länge. Zuerst sind die Bazillen vollkommen bewegungslos; aber in einigen Kulturen, nachdem man sie einige Stunden bei 33⁰ gehalten hat, beginnt eine große Anzahl derselben sich aktiv zu bewegen, ohne daß sie sich von den unbeweglichen unterscheiden würden. Betrachtet man ein einzelnes Stäbchen eine Zeitlang, so kann man zuerst eine ganz langsame, seitliche und fortschreitende Bewegung sehen; dann wachsen die Bewegungen allmählich bis zu großer Aktivität. Nach einiger Zeit beruhigt sich das Stäbchen wieder wie erschöpft und kehrt zu seinem früheren Zustand zurück. Die Teilung erfolgt nicht immer rasch. Sich loslösende Kettenglieder sind häufig beweglich. Nach der beweglichen Phase strecken sich die Stäbchen des Milzbrandbazillus in sporenbildende Stäbchen aus. Diese geben in der Maus typischen Milzbrand und beweisen somit, daß die beweglichen Stäbchen nichts anderes darstellen als eine bisher nicht beschriebene Phase des Milzbrandbazillus. — Kurz darauf hat Buchner (Nägelis Untersuchungen, 1882, 161) angegeben, daß die echten Milzbrandbazillen unter Umständen bei künstlicher Ernährung langsame Eigenbewegung zeigen können. Solche Stämme wurden späterhin als milzbrandähnliche Organismen angesprochen, und die klinische und pathologisch-anatomische Diagnose „Milzbrand" bestritten, wenn der gezüchtete Organismus beweglich war, obwohl er sonst alle Eigenschaften des Bac. anthracis besaß. Wagner veröffentlichte eine ganze Liste solcher Fälle von pathogenem „Pseudomilzbrand" (O. 90, 434), zu welcher noch der Fall von E. Seifert (M. m. W. 1925, 225) hinzukommt, dessen Stamm ich mit zu untersuchen Gelegenheit hatte.

Merkwürdig ist, daß diese Befunde meist aus den sekundär befallenen Individuen stammen (Mensch, Schwein), und es ist durchaus denkbar, daß es sich hier um das Pendeln zwischen der typischen Milzbrandform und der forma Buchneri handelt, die im Anschluß unten beschrieben wird. Bei meinen aufsteigenden Entwicklungsformen habe ich diese Phase nie gesehen, der Übergang aus der beweglichen Buchnerform zur forma typica verlief stets sprunghaft. Dagegen konnte ich von der forma typica aus allerlei Neigungen erkennen, die forma Buchneri zu bilden: Die schönen Lockenformen wurden auf den Faulflüssigkeitsnährböden struppig, die struppigen Formen erhielten bei weiteren Passagen einen immer glatteren Rand, wobei die Kolonien schleimig wurden und in reichem Maße Gonidienbildung zeigten. Weitere Abimpfungen gaben meist die forma typica, teilweise aber eine unbewegliche Buchnerform, die bei einigen Weiterimpfungen zur typischen Buchnerform mit Beweglichkeit wurde.

Es ist wohl anzunehmen, daß diese Fälle von „Pseudomilzbrand" zu den echten Milzbrandbazillen gehören und die forma mobilis eine stabil gewordene Zwischenform zwischen forma typica und forma Buchneri bildet.

In diesem Sinne spricht die Mitteilung Rozsahegyis (D. m. W. 1882, 24), daß die mit Pasteurs Kontrollstamm geimpften Milzbrandkontrolltiere ausnahmsweise auch bewegliche Organismen zeigten. Ebenso ist vielleicht der Gutachterstreit zu deuten, den Willach 1896 (D. tierärztl. W.) veröffentlichte.

d) Forma Buchneri.

Buchner hat als erster die Veränderlichkeit des Milzbrandbazillus angegeben und den Milzbrandbazillus in eine dem Bac. subtilis ähnliche Form umgewandelt, aus welcher er wiederum die typische Milzbrandform erhalten konnte (Nägelis Unters. nied. Pilze, 1882). Er schüttelte die Milzbrandbazillen bei täglicher Abimpfung in Zucker-Fleischextraktlösungen und konnte beobachten, daß nach einiger Zeit die vorerst klarbleibende Flüssigkeit sich trübte und dann nach vielen weiteren Überimpfungen von einer festen, trockenen Haut bedeckt war. Die Organismen waren nunmehr beweglich und zeigten schlankere (0,6 μ dick) oder plumpere (1,2 μ dick), abgerundete Stäbchenform. Sie besaßen gleich den typischen Milzbrandbazillen hohes Sauerstoffbedürfnis, benötigten Eiweiß oder peptonartige Substanzen als Stickstoffquelle und waren keine Fäulniserreger. Sie kamen aber im Gegensatz zur Forma typica auch mit Leucin oder Asparagin als N-Quelle aus, sie wuchsen in Heuaufguß, und ihre Sporen waren resistenter. Durch geeignete Methoden ließen sie sich wieder in typischen Milzbrand zurückführen (Tierpassagen unter Verwendung infizierter Leinwandläppchen, die unter die Haut gebracht wurden, durch Züchtung auf Eiereiweiß und Blut.)

Prazmowski (Bioch. Zentralbl. 1884) hat Buchners Umwandlungen bestätigt. Die Sporen seiner Formen keimten wie Milzbrand in der Längsachse aus und unterschieden sich dadurch vom typischen Bac. subtilis. Sie trübten die Nährflüssigkeit und bildeten an der Oberfläche eine dicke, schmutzig-weiße Decke von schleimiger Beschaffenheit. Fokker (C. f. d. med. Wiss. 18, 817) hat Ähnliches behauptet. Später haben Pasteur, Roux und Chamberland (C. r. Soc. Biol. 188) angegeben, daß die zur Immunisierung abgeschwächten Kulturen in Bouillon gleichmäßige Trübung erzeugen und nicht in Fäden wachsen. Gamaleia (A. P. 1888) hat zugefügt, daß die beiden Vakzins ganz bedeutend dünnere Stäbchen bilden als die Ausgangsform. Santori bestätigte die Trübung der Bouillonkulturen durch Schütteln (R. 35, 122).

In neuerer Zeit hat sich Preisz (O. 58, 510) in gründlichster Weise mit dieser Frage beschäftigt. Er fand, daß beim Abschwächungsprozeß durch das Pasteursche Verfahren der Bazillus nicht nur die Fähigkeit zur Kapselbildung verliert, sondern auch atypische Formen bildet: strukturlose, schleimige, fadenziehende, durchsichtige Kolonien, oft mit glattem oder mit schwach aufgefasertem Rand. Die Oberfläche ist entweder weiß oder schleimtropfenähnlich, die Konsistenz schmierig bis schleimig. In den schleimigen Kolonien zeigen die Organismen vielfach üppige Schleimkapseln, die schleimfreien Formen sind entweder dünner oder bedeutend dicker als die typischen Milzbrandstäbchen. Eine Rückverwandlung in die typische Milzbrandform gelang nicht.

Diese Formen stimmen vielfach mit den von mir gefundenen überein. Abb. 74 zeigt sahnig-schmierige Kolonien, Abb. 56 die plumpere Stäbchenform. Daneben fand ich oft die schlanke Form mit charakteristischen subtermalen Lücken, wie sie Preisz abgebildet hat (Abb. 61). Gleichzeitig fand ich die von Buchner angegebenen Eigenschaften (Bewegung durch peritriche Geißeln, Häutchenbildung auf Bouillon).

Die Forma Buchneri konnte ich einerseits auf festen Faulflüssigkeitsnährböden aus labilen Übergangsformen erhalten, andererseits stellt sie ein zäh beibehaltenes Stadium in der Zyklode des Milzbrandbazillus dar, aus dem ich nur in elf verschiedenen Versuchen den sprunghaften Übergang zur Forma typica erhielt. Dies wird durch die Abb. 78, 79 und 80 dargestellt.

e) Zusammenfassung.

Es sind 4 Formae beschrieben worden, welche eine hinreichende Konstanz besitzen. Jede schwingt in morphologischer und biologischer Hinsicht um einen bestimmten Gleichgewichtszustand. Die Pendelbewegung läuft aber durchweg in der Richtung der Zyklode. Am interessantesten ist dies bei der Forma Buchneri und bei der Forma ödematis. Für die erstere gibt Preisz folgendes an: Hausmäuse gehen in 1½ bis 3 Tagen ein; in Blut und Organen finden sich milzbrandähnliche Bakterienformen, auf der Platte wuchsen wieder atypische Formen. Dies kann ich bestätigen. Ebenso verhält es sich mit der Forma ödematis, nur sind hier die Ausschläge noch größer. Impft man die gramnegativen Stadien der Zyklode in massiven Dosen in die Subkutis von Mäusen und Meerschweinchen, so sieht man vielfach in den gefärbten Ausstrichen der gestorbenen Tiere typische Milzbrandformen, findet aber überraschenderweise auf den Platten keine Spur der gehofften Bazillen. Die Buchnerform, aber auch die anderen Formen können im Tierkörper plötzlich einen Sprung nach rückwärts machen, und ich kann Preisz vollkommen bestätigen, wenn er sagt, daß abgeschwächte Varietäten im Körper der Maus eine weitere Abschwächung erfahren können. Andererseits kann man durch Impfung von Tier zu Tier die einzelnen Formen beliebig lang auf konstanter Höhe halten. Wie ein solch verschiedenes Verhalten zu erklären ist, weiß ich nicht, doch scheinen mir die im Tierkörper sich abspielenden Prozesse von größter Bedeutung zu sein. Ich vermute auf Grund der zahlreichen Schilderungen in der Literatur und der vielen Präparate aus dem Tierkörper, daß die Phagozytose enge Beziehungen zur Zyklode hat. Doch muß man für solche Untersuchungen zuerst eine brauchbare Technik finden.

Parallel zum Abklingen der Infektiosität verändert sich der Erreger. Czaplewski (O. 93, 119*) hat dies folgendermaßen ausgedrückt: „Aus der Betrachtung der Epidemien wissen wir, daß nur auf der Höhe der Epidemie die typischen, voll entwickelten Krankheitsfälle in reinster Form zu beobachten sind, daß aber am Anfang und am Schluß der Epidemie daneben abortive und vielfach ganz unklare, zum Teil larvierte Fälle auftreten, deren Zugehörigkeit aufzudecken mitunter sehr schwierig ist. Parallel gehend pflegen auch die Krankheitserreger nur auf der Höhe der Epidemie in typischer Form und in typischen Kulturen nachweisbar zu sein, während am Anfang und Ende der Epidemie oft die bemerkenswertesten Abweichungen auftreten.“ Ähnliche Gedanken hat Neufeld in seinem Referat in Göttingen (O. 93, 93*) ausgesprochen.

Ich habe mir auch die Frage vorgelegt, welche Bedeutung die Kreislaufformen für die Epidemiologie besitzen. Die Untersuchungen sind noch nicht abgeschlossen. Viele Einzelheiten, besonders aus der älteren Lite-

ratur und meine bisherigen Befunde sprechen dafür, daß sich auch unter natürlichen Bedingungen Vorgänge abspielen, wie sie schon Feser (Der Milzbrand in den oberbayerischen Alpen 1877, S. 46) vermutete: „Es scheint fast, als ob nur zu gewissen Perioden das Kontagium gefährlich ist und zu anderen Zeiten latent bleibt. Vielleicht macht es einen Vegetationswechsel mit unschädlichen Phasen durch.“ Vorerst lassen sich diese unschädlichen Phasen nur im Reagenzglas darstellen; in der Natur liegen die Verhältnisse vielleicht anders, so daß eine Verallgemeinerung der Bakterienkreisläufe auf die Epidemiologie ebensowenig zulässig ist wie die Erklärung, daß nur die Endospore für die epidemiologischen Erscheinungen des Milzbrands ursächlich in Frage komme.

V. Ergebnis.

1. Schon in den jungen, auf Nähragar gewachsenen Milzbrandkolonien zeigen sich Vorgänge der Gonidienbildung, wie sie in Abb. 1 a—c dargestellt sind. Außerdem zeigt sich die Einrollung der Kettenenden, die erste Phase der in Abb. 1e gezeichneten Gonidienbildung.
2. Unter bestimmten Züchtungsbedingungen (Zusatz der eigenen Stoffwechselprodukte zur Kultur, Zusatz der Stoffwechselprodukte von Bact. pyocyaneum zur Kultur, Zusatz von keimfrei filtrierter faulender Flüssigkeit zur Kultur) findet keine Endosporenbildung statt. Der Bac. anthracis schlägt einen völlig anderen Entwicklungsgang ein; die Gonidienbildung steht im Vordergrund; die vegetative Vermehrung (Zellteilung) kann dabei unterbrochen sein. Die Gonidienbildung erfolgt in den Formen, wie sie in Abb. 1 angegeben sind.
3. Erst wenn die Gonidienbildung zur vorherrschenden Entwicklungsform geworden ist, gelingt die Züchtung der Gonidien. Meist geht aber der Vermehrungsfähigkeit der Gonidien eine verschieden lange anhaltende Ruhephase voraus, in welcher eine Züchtung unmöglich ist, weil die Zellteilung fehlt.
4. Es werden zweierlei Gonidienformen gebildet, große, kugelige, grampositive von etwa $0{,}5\,\mu$ Durchmesser und feine stäbchenförmige, gramnegative. Die ersteren sind ungleich resistenter, unbeweglich und bilden feine, streptokokkenartige Kolonien; die letzteren sind weniger resistent, müssen häufig überimpft werden, sind beweglich und passieren teilweise Kieselgurfilter. Sie besitzen eine Größe von etwa $0{,}2 \times 0{,}4\,\mu$ und bilden sehr zarte Kolonien von etwa $^1/_{10}$ mm Durchmesser, die bläulich durchscheinend und glattrandig sind.
5. Ob es sich um Geschlechtsformen handelt, war nicht feststellbar; die Verschmelzung zahlreicher Individuen der einen Form mit zahlreichen Individuen der anderen Form in der Art einer Symplasmabildung im Sinne von Löhnis kommt vor.
6. Die Entwicklung der Gonidienformen zur typischen Milzbrandform erfolgt entweder rasch („sprunghaft“) oder langsam über die verschiedensten Zwischenstadien. Abb. 2 zeigt die ganze Zyklode im Sinne von Enderlein.

   Die gramnegative Form hat entweder ihre eigene Entwicklung und geht dabei über das Stadium, welches Zironi und Sanfelice

Bac. anthracis colisimilis genannt haben zur Forma Buchneri oder über ein Stadium, das dem Löhnisschen Symplasma entspricht, in die Entwicklungsreihe der grampositiven Gonidienformen hinüber.

Die grampositive Kugelform streckt sich, nachdem sie vielfach zunächst ein üppiges Wachstum als Kugelform gezeigt hat (Regenerativkörper im Sinne von Löhnis, Basitstadium nach Enderlein), zu unregelmäßigen, gramschwankenden Stäbchenformen, welche dann regelmäßig werden und deutliche Bazillenform annehmen. Dann werden Sporen gebildet. Diese Form ist schwach beweglich und insofern pathogen, als bei Meerschweinchen, Mäusen und Kaninchen durch subkutane Injektion ein starkes Ödem erzeugt wird, an dem die Tiere vielfach sterben. Der Organismus gleicht hier durchaus dem von Robert Koch beschriebenen Bac. oedematis maligni. Er ist aerob.

Beide Entwicklungsreihen treffen sich in der Forma Buchneri, der von Hans Buchner beschriebenen subtilisartigen Milzbrandform, die beweglich ist, die Bouillon trübt und Häutchen bildet. Hier bleiben viele Stämme stehen, während hin und wieder der sprunghafte Übergang zur Forma typica erfolgt.

7. Einzelne Kreislaufformen sind von verschiedenen Autoren bei Milzbrand gefunden worden. Meine Befunde decken sich mit Untersuchungen von Löhnis und Enderlein, die im 1. Abschnitt der vorliegenden Arbeit abgehandelt sind.
8. Die höheren Formen der Zyklode: Forma typica, mobilis, Buchneri und asporogenes sind eingehend beschrieben. Die „Mutationen“ der Autoren, soweit es nicht geringe, jedem Organismus eigene und von den Umweltsbedingungen abhängige Modifikationen sind, liegen alle in der Richtung der Zyklode, sind demnach als stabil gewordene Kreislaufformen aufzufassen.
9. Ob im Wirtsorganismus ebenfalls ein solcher Kreislauf zustande kommt, zu welchem die Phagozyten wichtige Beziehungen haben, ist noch nicht zu sagen.
10. Vorerst lassen sich die avirulenten Phasen des Milzbrandkreislaufes nur im Reagenzglas darstellen. In der Natur liegen die Verhältnisse vielleicht anders, so daß eine Übertragung der Befunde auf die epidemiologischen Erscheinungen nicht ohne weiteres möglich ist.

Erklärung der Tafelfiguren.

Tafel I.

Abb. 1: Sprossende Gonidienformen. Robert Koch 1877, Tafel 16, Abb. 5. 700:1. Nach Löhnis. An 2 Stellen ist der Zusammenhang mit den Stäbchen sehr deutlich. Auch freie Gonidien scheinen vorhanden zu sein.
Abb. 2: Freie Gonidienformen. R. Koch 1881. Tafel 6, Abb. 33. 700:1. Nach Löhnis. Zwischen den unregelmäßig werdenden Stäbchen vielfach runde Gonidienformen.
Abb. 3: Sprossende Gonidienformen. Günther 1906, Abb. 29, 1000:1. Nach Löhnis. An mehreren Stellen, besonders an den Ecken der Milzbrandstäbchen, zeigen sich ganz deutliche Gonidien im Zusammenhang mit den Stäbchen. Merkwürdig ist, daß Günther, der diese Abbildung gibt, diese auffallenden Sprossungen nicht erwähnt.
Abb. 4: Sprossende Gonidienformen. Gramfärbung. 1000:1. Die seitlichen Gonidien wachsen zu großen Gebilden heran und schnüren sich dann beim Zerfall des Fadens ab.
Abb. 5: Gonidienbildung. Gramfärbung. 1000:1. Am Ende der Milzbrandkette spaltet sich ein Stäbchen längs. Während der eine Schenkel 2 Gonidien bildet, wächst der andere Schenkel weiter, so daß zum Schluß 2 Gonidien an der Seite der Milzbrandkette liegen.
Abb. 6: Gonidienbildung durch Auswachsen eines runden Kettenstückes. Gramfärbung. 1000:1. Das runde Kettenstück wächst quer zur Kette zum ovalen Gebilde aus, welches durch Querteilung 2 Gonidien bildet. Die Abbildung zeigt das Querstück vor der Teilung.
Abb. 7: Zerfall zu Kugelformen innerhalb der Scheide. Gramfärbung. 1000:1 Die Scheide ist noch undeutlich zu sehen.
Abb. 8: Auflösung der Scheide. Die Gonidien werden frei. Gramfärbung. 1000:1.
Abb. 9: Derselbe Vorgang im Tierkadaver. Gramfärbung. 1000:1.
Abb. 10: Derselbe Vorgang unter Pyozyanasewirkung. Gramfärbung. 1000:1.
Abb. 11: Doldenbildung. Gramfärbung. 800:1. Der Milzbrandfaden oder die Milzbrandkette rollen sich ein und bilden zunächst eine homogene große Kugel, die in einzelne Stücke zerfällt. Man kann die Kugel als Gonidangium betrachten.
Abb. 12—14: Aufblähung der Stäbchen zu Spindelformen — dem ersten Anfang der Gonidangienbildung. Abb. 13 zeigt daneben eine Doldenbildung, analog Abb. 11. Gramfärbung. 1000:1.
Abb. 15: Die geblähten Zellen werden zu großen Kugelformen, die noch nicht regelmäßige Form erhalten haben. Gramfärbung. 1000:1.
Abb. 16 u. 17: Fertige, regelmäßige Gonidangien, Gramfärbung. 1000:1. Ebenso sind auf Abb. 18 und 22 solche Gonidangien zu sehen.
Abb. 18: 3 Gonidangien, von denen das mittlere eben zu zerfallen beginnt; das untere ist in vollem Zerfall. Gramfärbung. 1000:1.
Abb. 19: Zerfallende Gonidangien. Gramfärbung 1000:1.
Abb. 20: Dasselbe. Gramfärbung. 1000:1.
Abb. 21: Das Gonidangium im Zerfall. Die eine Seite des vorher runden Gebildes wird körnig und läßt Gonidien frei, während die andere Seite noch scharfrandig ist. Gramfärbung. 1000:1.
Abb. 22: Gonidangienbildung neben stark verschnörkelten Milzbrandketten. Gramfärbung. 1000:1.
Abb. 23: Äußerst großes Gonidangium, das einen granulären Inhalt zeigt und nach Löhnis als rundes Symplasma aufzufassen ist. Gramfärbung. 1000:1.
Abb. 24: Schöne Keulenbildung, welche nach Löhnis ebenfalls eine Gonidangienbildung darstellt. Gramfärbung. 1000:1.

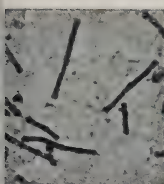
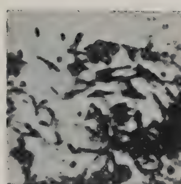
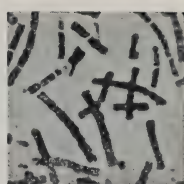
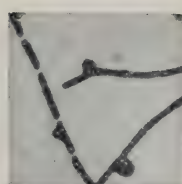
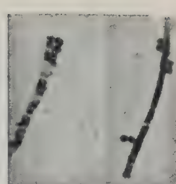
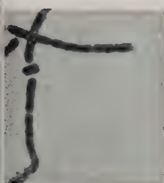
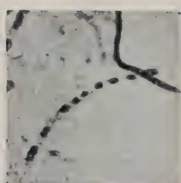
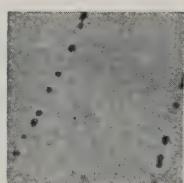
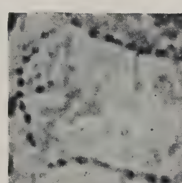
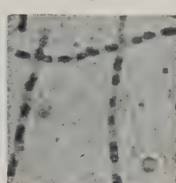
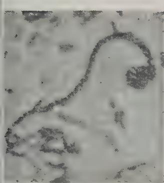
Abb. 25 u. 26: Verzweigungen am Milzbrandfaden. Gramfärbung. 1000:1.
Abb. 27 u. 28: Massenhafte Bildung von feinen Gonidien durch Auflösung der vegetativen Fäden. Gramfärbung. 1000:1.
Abb. 29 u. 30: Bildung vereinzelter feiner Gonidien zwischen den vegetativen Zellen. Gramfärbung. 1000:1.
Abb. 31: Massenhafte Bildung feiner Gonidien zwischen den vegetativen Zellen. Gramfärbung. 1000:1.
Abb. 32: Granulabildung im Milzbrandstäbchen. 1000:1.
Abb. 33: Kolonie der feinen gramnegativen Gonidienformen. Durchsicht 100:1. Es sind sehr feine blasse Fleckchen auf der Agarfläche, die völlig strukturlos sind.
Abb. 34: Die feinen gramnegativen Gonidienformen in Reinkultur. Fuchsinfärbung. 1000:1.
Abb. 35: Kolonie der großen grampositiven Gonidienform. Durchsicht. 100:1

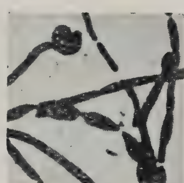
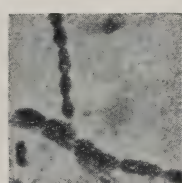
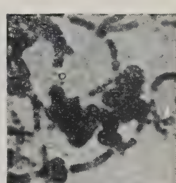
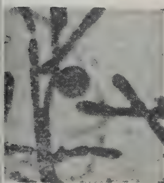
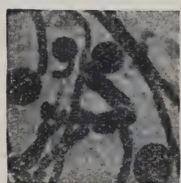
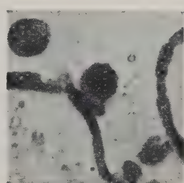
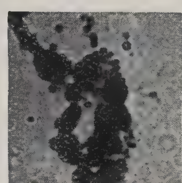
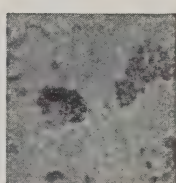
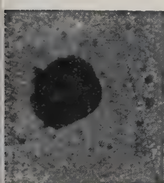
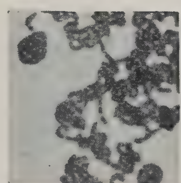
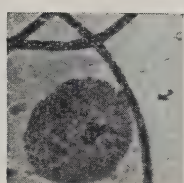
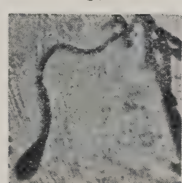
Tafel II.

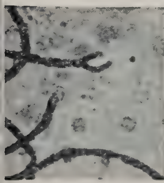
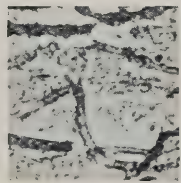
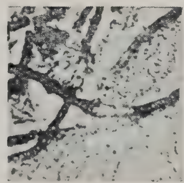
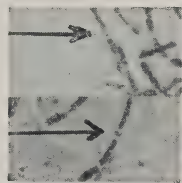
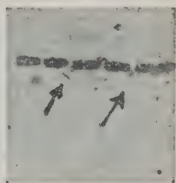
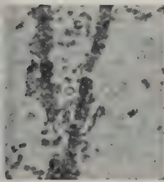
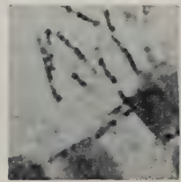
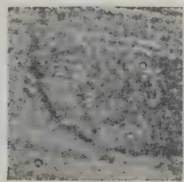
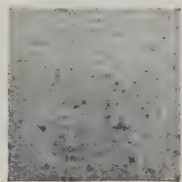
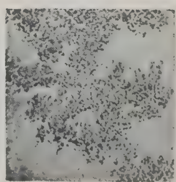
Abb. 36: Kolonie der großen grampositiven Gonidienformen nach einigen Nährbodenpassagen. Durchsicht. 100:1.
Abb. 37: Große grampositive Gonidien in Reinkultur. Kettenlagerung, Gramfärbung. 1000:1.
Abb. 38: Streckung dieser Gonidien. Gramfärbung. 1000:1.
Abb. 39: Kugelförmige, große, grampositive Gonidien. Gramfärbung. 1000:1.
Abb. 40: Kolonie der kugeligen Zellformen. Durchsicht. 100:1.
Abb. 41: Milzbrandfäden mit den großen und den feinen Gonidien nebeneinander. Gramfärbung. 1000:1.
Abb. 42: Beide Gonidienformen nebeneinander bei Crenothrix polyspora. Nach einer Abbildung von Rullmann 1:500. Man sieht im Faden unten die großen Gonidienformen. Im Fadenstück oben die feinen Gonidienformen. Auch sieht man einige freie feine Gonidienformen.
Abb. 43: Kreuzungsstelle zwischen den beiden Impfstrichen der großen und der feinen Gonidienformen. Die großen Gonidien bilden sternförmige Kolonien. Durchsicht. 100:1.
Abb. 44 u. 45: Klatschpräparate von den Berührungsstellen zwischen den grampositiven großen und den gramnegativen feinen Gonidienformen. Vor der Verschmelzung erhalten die Zellen vielfach unscharfe Umgrenzung, wie es aus Abb. 45 ersichtlich ist.
Abb. 46 u. 47: Löcherbildung in Milzbrandkulturen. 1:1.
Abb. 48: Regenerativkörper. Unregelmäßige, meist kugelige, stark grampositive Zellen, von denen aus die Weiterentwicklung zu Stäbchenformen stattfindet. Gramfärbung. 1000:1.
Abb. 49: Die Kugelformen strecken sich zu Kurzstäbchen. Gramfärbung. 1000:1.
Abb. 50: Die Bazillenform ist ersichtlich. Grampositive Stäbchen, welche noch keine Sporen enthalten. Gramfärbung. 1000:1.
Abb. 51—54: Entwicklung einer Kolonie von der Kugelform über die Kurzstäbchenform und forma Buchneri (53) zur forma typica (54). Kolonieränder. Durchsicht 100:1.
Abb. 55: Sich streckende Kugelformen, Gramfärbung. 1000:1.
Abb. 56: Forma Buchneri. Gramfärbung. 1000:1.
Abb. 57: Forma Buchneri. Gramfärbung. 1000:1.
Abb. 58: Porzellanweiße Kolonien, die aus Kugelformen bestehen, schieben nach einigen Wochen einen grauen Rand vor. Aufsicht. 1:1.
Abb. 59: Die Organismen dieses Randes sind Stäbchen, die teilweise keulenförmig angeschwollen sind. Gramfärbung. 1000:1.
Abb. 60: Zwischen den feinen, kaum mehr färbbaren Gonidienformen bilden sich in Inseln größere, besser färbbare Stäbchen, die gramschwankend sind.
Abb. 61: Forma Buchneri, mit subtermalen Lücken, wie sie auch Preisz gefunden hat. Gramfärbung: 1000:1.

Tafel III.

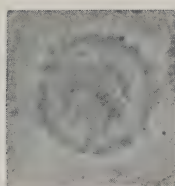
Abb. 62: Übergang der feinen Gonidienformen in grampositive Kugel- und Kurzstäbchenformen. Gramfärbung. 1000:1.
Abb. 63: Übergang der Kurzstäbchen zu Stäbchenketten. Man sieht zwischen den plumpen Stäbchen 2 Ketten in Bildung. Gramfärbung. 1000:1.
Abb. 64: Fadenformen. Gramfärbung. 1000:1.
Abb. 65: Forma ödematis. Das Bild stammt von Robert Koch 1881. Tafel 8. Abb. 46 und ist Löhnis entnommen. 700:1.
Abb. 66: Übergang der schwach färbbaren feinen Gonidienformen in stärker färbbare Stäbchen in einer amorphen schleimigen Masse (Symplasma Löhnis). Fuchsinfärbung. 1000:1.
Abb. 67: Übergang aus den schwach färbbaren Stäbchen zu grampositiven Kugelformen. Man sieht vielfach das Symplasma von Löhnis. Gramfärbung. 1000:1.
Abb. 68: Segmentbildung in den gramnegativen Stäbchenkolonien. Durchsicht. 100:1.
Abb. 69: Es scheiden sich Segmente ab, welche gramschwankenden Stäbchenketten entsprechen. Durchsicht. 100:1.
Abb. 70: 2 atypische junge Milzbrandkolonien, welche sich zur „Strubelkopfform“ entwickeln. Durchsicht. 50:1.
Abb. 71 u. 72: Knopfbildungen. Aufsicht. 2:1.
Abb. 73: Knopfbildungen. Durchsicht. 4:1.
Abb. 74: Forma Buchneri. Aufsicht. 2:1.
Abb. 75, 76, 77: Ungewöhnliche Koloniebilder der forma typica auf Agar, der Fäulnisstoffe enthält. Aufsicht. 2:1.
Abb. 78 und 79: Segmentbildung in der forma Buchneri, welche zur forma typica führt. Durchsicht. 2:1.
Abb. 80: Dasselbe. Durchsicht. 20:1.

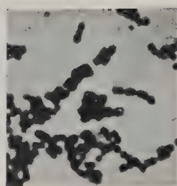

1.

2.

3.

4.

5.

6.

7.

8.

9.

10.

11.

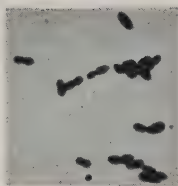
12.

13.

14.

15

16.

17.

18.

19.

20.

21.

22.

23.

24.

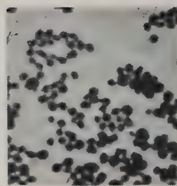
25.

26.

27.

28.

29.

30.

31.

32.

33.

34.

35.

Tafel I.

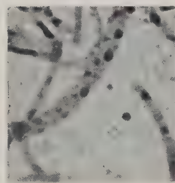

36.

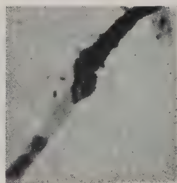

37.

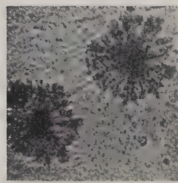

38.

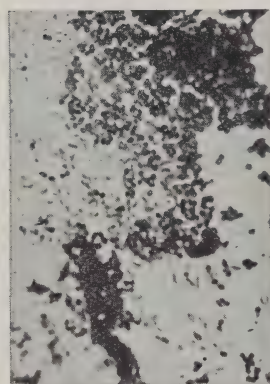

39.

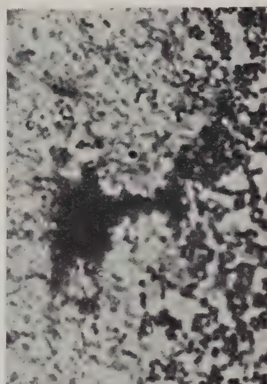

40.


41.

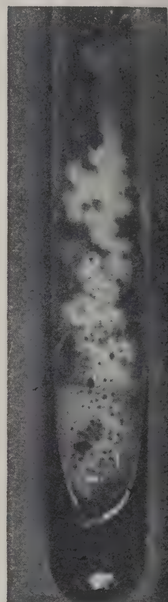

42.

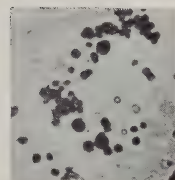

43.

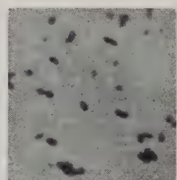

44.

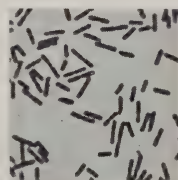

45.

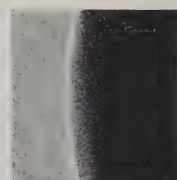

46.

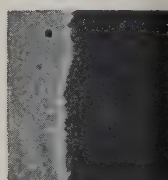

47.

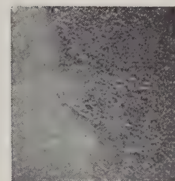

48.

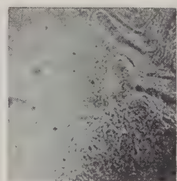

49.

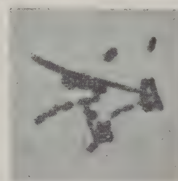

50.

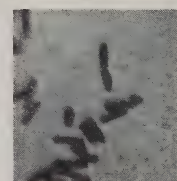

51.

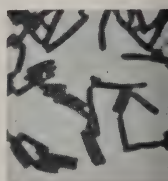

52.

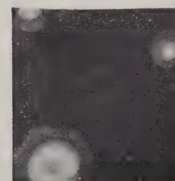

53.

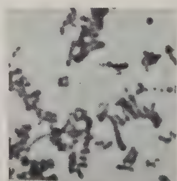

54.

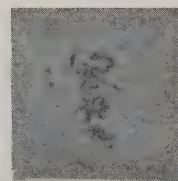

55.

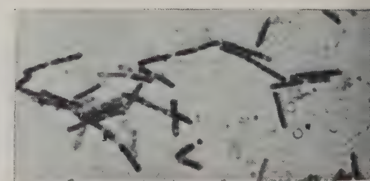

56.


57.

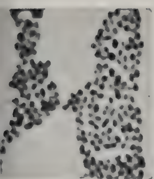

58.

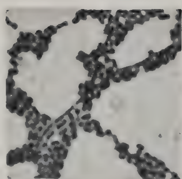

59.

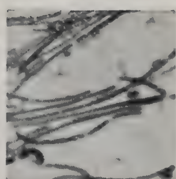

60.

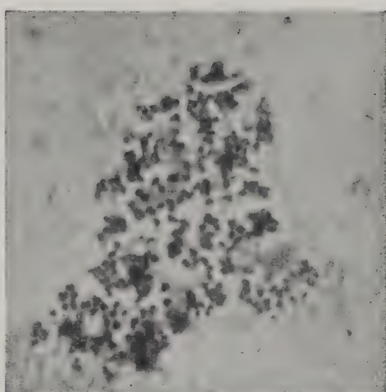

61.

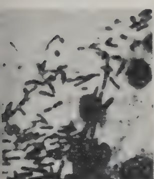
Tafel II.

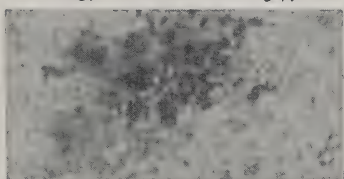

62.

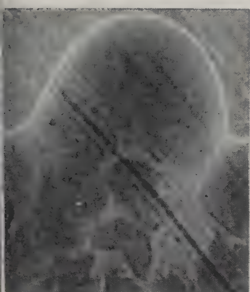

63.

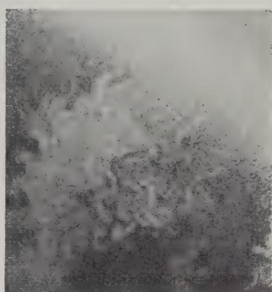

64.

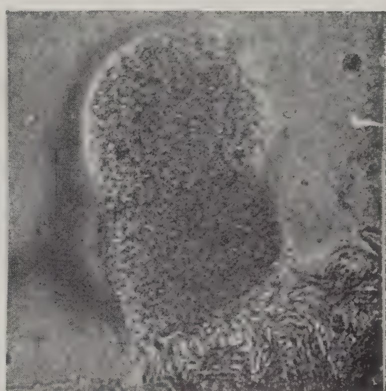

67.

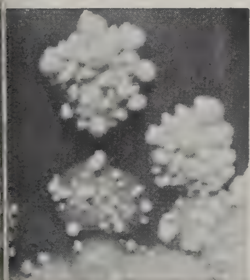

65.

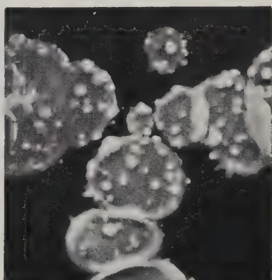

66

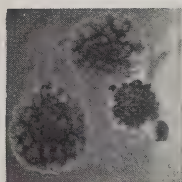

68.

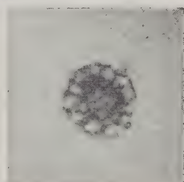

69.

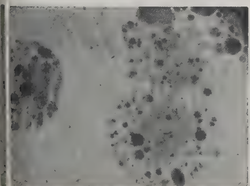

70.

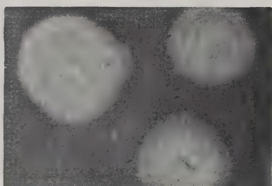

71.


72.

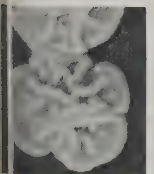

78.

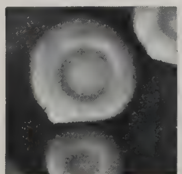

79.

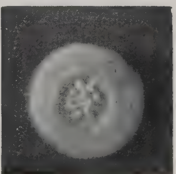

73.


74.




75.


76.


77.

80.

Tafel III.

ARCHIV FÜR HYGIENE

BEGRÜNDET VON MAX VON PETTENKOFER
FORTGEFÜHRT VON MAX RUBNER

UNTER MITWIRKUNG VON

HERAUSGEGEBEN VON

MAX v. GRUBER · K. B. LEHMANN · P. UHLENHUTH

98. BAND · 6., 7. u. 8. HEFT



MÜNCHEN UND BERLIN
VERLAG VON R. OLDENBOURG
1927

Inhalt.

In den nächsten Heften werden erscheinen:

Die Sojabohnen und ihre Verwertung im Organismus. Nach Stoffwechselversuchen am Menschen. Von Geh. Rat Professor Dr. med. et phil. R. O. Neumann, Direktor des Hygienischen Staatsinstituts, Hamburg.) (Eingegangen am 20. Juni 1927.)

Über den Energieverbrauch beim Orgelspiel. Von G. Farkas und J. Geldrich. (Aus dem Physiologischen Institut der Universität Budapest. (Eingegangen am 4. Juli 1927.)

Studien über Schwankungen der Virulenz bei fortgezüchteten Diphtherie-Stämmen. Von Dr. Josef Siegl, Assistent der Klinik. (Aus der Universitäts-Kinderklinik in Graz. Vorstand: Prof. Dr. Franz Hamburger.) (Eingegangen am 20. Juli 1927.)

Das rote Blutbild der Zementarbeiter. Von Dr. med. Walter Saleck, Assistent des Instituts. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Tübingen. Vorstand: Prof. Dr. K. Wolf.) (Eingegangen am 21. Juli 1927.)

Vergleich verschiedener Formeln zur Berechnung des Grundumsatzes. Von Dr. Herm. v. Hoesslin. (Eingegangen am 27. Juli 1927.)

Einfluß von Ernährungszustand, mittlerer Arbeitsleistung und Alter auf die Höhe des Grundumsatzes. Von Dr. Herm. v. Hoesslin. (Eingegangen am 27. Juli 1927.)

Die Prüfung von Hammelblutkörperchen. zugleich ein Beitrag zur Bleivergiftung am Tier. Von Hans Rupp, ehem. Vol.-Assistent am Institut. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität München. Direktor: Geh. Rat Prof. Dr. K. Kisskalt.) (Eingegangen am 29. Juli 1927.)

Mangan in Wasserversorgungen der Rheinprovinz. Von Karl Kisskalt. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Bonn. Damaliger Direktor: Prof. Dr. Kisskalt.) (Eingegangen am 29. Juli 1927.)

Epidemiologische Untersuchungen. IV. Zur Aufteilung der Diphtheriepandemie des 19. Jahrhunderts in drei Seuchenzüge. Von Karl Kisskalt. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität München.) V. Das Ansteigen der Diphtherie in den Rheingegenden im 19. Jahrhundert. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Bonn.) (Eingegangen am 29. Juli 1927.)

Über die Bindung des Bakteriophagen. Von K. v. Angerer und H. Rupp. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität München. Vorstand: Geh. Rat Prof. Kisskalt.) (Eingegangen am 29. Juli 1927.)

(Fortsetzung auf der 3. Umschlagseite.)

Untersuchungen über die Verunreinigung der Kieler Förde. Von Karl Kisskalt. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Kiel. Damaliger Direktor: Prof. Dr. Kisskalt.) (Eingegangen am 29. Juli 1927.)

Ergebnisse der Untersuchungen über die Verunreinigung der Kieler Förde in den Jahren 1926 und 1927. Mit 1 Karte. Von Dr. W. Liese. Assistent am Institut. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Kiel. Direktor: Professor Korff-Petersen.) (Eingegangen am 1. August 1927.)

Vergleichende Untersuchungen über Schwefelkohlenstoff und Salforkose. Von Prof. Dr. H. Ilzhöfer, Assistent am Institut. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität München. Vorstand: Geh. Rat Prof. Dr Kisskalt.) (Eingegangen am 1. August 1927.)

Das Toxinbildungsvermögen der Paratyphusbazillen und seine Beziehungen zur Pathogenität. Von Minna Ries. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Freiburg i. Br. Direktor: Geheimrat Uhlenhuth.) (Eingegangen am 4. August 1927.)

Chlorzahl und Chlorbedarf des Wassers. Ein Beitrag zur Beurteilung des Chlorbindungsvermögens. I. Teil. Von Dr. phil. nat. Hans Wette, Assistent des Instituts. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Jena. Direktor; Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. Rudolf Abel.) (Eingegangen am 8. Aug. 1927.)

Die Erzeugung basophil granulierter Erythrozyten im Tierversuch durch feuchte Wärme. Ein Beitrag zur Bewertung der punktierten roten Blutkörperchen für die Frühdiagnose der Bleivergiftung Von Privatdozent Dr. Hans Lehmann, Assistent des Instituts. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Jena. Direktor: Geh. Obermedizinalrat Professor Dr. Abel.) (Eingegangen am 8. August 1927.)

Untersuchungen über Hefepopulationen. Von Dr. T. Kigasawa. (Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität Prag. Vorstand: Professor Dr. O. Bail.) (Eingegangen am 22. August 1927.)

Mikrobestimmungen von Blei (ein Beitrag zur Diagnose der Bleierkrankung). Von Privatdozent Dr. A. Seiser, A. Necke und Dr. H. Müller. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Halle a. S. Direktor: Professor Dr. P. Schmidt.) (Eingegangen am 26. August 1927.)

---

*Beiträge beliebe man bis auf weiteres zu senden an **Prof. Dr. K. B. Lehmann, Würzburg, Hygienisches Institut.***

Stiftung Luigi Devoto: Preis 10000 Lire für eine nach dem 1. I. 1927 veröffentlichte Arbeit, die einen wertvollen Beitrag zu irgendeinem Punkt der Gewerbepathologie bringt. Die Arbeit kann in deutscher, französischer, englischer oder italienischer Sprache verfaßt sein. Letzter Ablieferungstermin 31. XII. 1927, 15 Uhr. Eingaben sind an das „R. Instituto lombardo di scienze e lettere", Mailand, zu richten.

Für den Anzeigenteil verantwortlich: Jakob Bauer, München.
Druck: R. Oldenbourg, München.

